

Aus der I. medizinischen Universitätsklinik Basel
Vorsteher: Prof. H. Staub

**Physiologische Grundlagen
und klinische Bedeutung des Eosinophilentestes
als Maß der Nebennierenrindenfunktion**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität Basel

Vorgelegt von
CHARLES PERLIA
von Luxemburg

1954
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. medizinischen Universitätsklinik Basel
Vorsteher: Prof. H. Staub

**Physiologische Grundlagen
und klinische Bedeutung des Eosinophilentestes
als Maß der Nebennierenrindenfunktion**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität Basel

Vorgelegt von
CHARLES PERLIA
von Luxemburg

1954
Druck von Benno Schwabe & Co.
Basel

Von der medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von Herrn Prof. Dr. H. Staub
Tag der Promotion: 10. Juli 1953



Erschienen in den «Helvetica Medica Acta»
Vol. 21, 1954, Fasc. 1

Meinen lieben Eltern

Herrn Prof. Dr. *H. Staub* bin ich für die Anregung zu diesem Thema und dem Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, sehr zu Dank verpflichtet.

Herrn PD. Dr. *H. Baur* möchte ich für seine liebenswürdige Unterstützung sowie für die Durchsicht dieser Arbeit bestens danken.

Einleitung

Obwohl Veränderungen der Zahl der zirkulierenden Eosinophilen bei den verschiedensten pathologischen Zuständen schon seit langem bekannt sind, ist die Erkenntnis von Zusammenhängen zwischen Verhalten dieser Zellen und der NNR-Aktivität doch viel jüngeren Datums.

Schon vor über 100 Jahren (1846) vermutete *Wharton Jones* (1) die Eigenart der «grobgranulierten Zellen»; aber es bleibt das Verdienst *P. Ehrlichs* (2), durch seine bekannten farbenanalytischen Untersuchungen, speziell auch die Entdeckung der eosinophilen Granulationen, die Idee einer spezifischen Bedeutung und Funktion der einzelnen, bis dahin zusammen geworfenen Leukocytenarten angebahnt zu haben. Seitdem (1879) hat sich ein sehr umfangreiches klinisches und experimentelles Material angehäuft, das aber zum größten Teil nur eine lose Aneinanderreihung von «Tatsachen» blieb.

Angaben über qualitative und quantitative Veränderungen des weißen Blutbildes bei NNR-Störungen finden sich schon wiederholt in der älteren Literatur (3), sind aber doch so verschieden, daß sie kaum auf einen gemeinsamen Nenner gebracht werden können. Ebenso widersprechend sind Untersuchungen über Beeinflussung des weißen Blutbildes nach Zufuhr von Gesamt-NN-Extrakten.

Erst seit den Arbeiten von *Selye* und Mitarb. (6–8) werden die Beziehungen zwischen NNR-Aktivität und Blutzellen genauer erkannt und untersucht. Das Auftreten typischer Veränderungen (neutrophile Leukocytose, Lymphopenie, Eosinopenie) parallel oder als Folge gesteigerter NNR-Aktivität konnte in der Folge sowohl tierexperimentell als auch beim Menschen durch Verabreichung wirksamer NNR-Extrakte bzw. Rein hormone und später mit ACTH reproduziert werden. Die zentrale und spezifische Stellung der NNR beim Zustandekommen dieser Veränderungen wurde durch Versuche an adrenaletomierten bzw. hypophysektomierten Tieren klargelegt. Es bleibt das Verdienst von *G. W. Thorn* (9, 10), auf Grund dieser experimentellen und klinischen Beobachtungen eine einfach durchführbare Funktionsprüfung der NNR (bzw. des HVL-NNR-Systems) ausgearbeitet und damit die funktionelle Überprüfung eines Systems, dessen Bedeutung in letzten Jahren immer mehr hervortrat, erleichtert zu haben. Es fragt sich,

ob die Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit dieses Testes sich auch hat klinisch beweisen lassen.

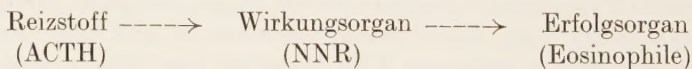
An Hand eigener Beobachtungen und Literaturangaben der letzten Jahre sei versucht, eine kurze Übersicht über Grenzen, Spezifität und Empfindlichkeit dieser Funktionsprobe zu geben.

Definition

Der (ACTH-) Thorn-Test als reine NNR-Funktionsprüfung dient zur Ermittlung der Reservekapazität dieses Organs. Er erfaßt dessen Fähigkeit, nach spezifischer Stimulation, vermehrt und zusätzlich zu der schon vorhandenen Sekretion Corticoide ins Blut abzugeben. Die Eosinophilen sind dabei die indirekten Indikatoren dieser gesteigerten Hormonsekretion (nach ACTH-Injektion). Die ideale Nachweismethode – direkte Bestimmung der Corticosteroide im Blut (Nelson [11]) – ist zur Zeit als klinische Routinemethode noch nicht realisierbar. Es bleiben daher auch heute die indirekten Methoden in Geltung, zu welchen der Thorn-Test gehört.

Die praktische Durchführung erfolgt entweder als 4-Stunden-Test, als 48-Stunden-Test oder als i.v. Infusion. Bei ersterem werden die Eosinophilen vor bzw. 4 Stunden nach einmaliger Injektion von ACTH (25 IE. i.m. oder 5 IE. i.v.) kontrolliert; eine Verminderung derselben um 50% gilt als normal. Beim sogenannten 48-Stunden-Test werden nach einer ersten Injektion (25 IE. i.m.) während 48 Stunden 6stündlich je 10 IE. verabreicht; Kontrolle der Eosinophilen vor und 4 Stunden nach der letzten Injektion. Beim Infusionstest (10–25 IE. in 500–1000 cm³ physiol. NaCl oder 5% Glukoselösung über 6–8 Stunden) gilt ein Eosinophilenabfall von 80% 8–10 Stunden nach Beginn der Infusion als normal. Bei beiden letzteren Modifikationen sollte zusätzlich noch die Steroidausscheidung im Urin kontrolliert werden.

Die unmittelbaren Vorteile dieser Funktionsprüfung sind ihre relativ einfache Durchführbarkeit sowie die im Gegensatz zu andern Funktionsproben geringe Zahl störender Faktoren, welche durch Gegenregulationen und andere kompensatorische Mechanismen bedingt sind. Aber auch für diesen Test kommt eine Anzahl Fehlerquellen in Frage, die man kennen muß, um Fehlschlüsse zu vermeiden. Zur Überprüfung dieser Fehlermöglichkeiten kann folgendes Schema des Reaktionsablaufes (beim ACTH-Test) als Einteilung dienen.



I. Reizstoff

Es ist bekannt, wird aber oft ungenügend beachtet, daß ein Ausbleiben des Thorn-Effektes sowie anderer Stoffwechsel- und therapeutischer Wirkungen allein auf das angewandte ACTH-Präparat zurückzuführen sind. Solche Fehlergebnisse können bedingt sein:

a) durch die Applikationsart, b) durch ein unwirksames Präparat, c) durch andere zum Teil noch unbekannte Faktoren.

a) Applikationsart

Die im Handel befindlichen ACTH-Präparate sind chemisch Eiweißkörper, deren genaue Struktur aber noch nicht voll abgeklärt ist. Als Proteohormone können sie nur parenteral verabfolgt werden, üblicherweise i.m. oder i.v.

Kurz erwähnt sei die Beobachtung von *Smith* und Mitarb. (12), daß auch nasale Insufflation von 10–20 mg ACTH bei 18 von 20 gesunden Versuchspersonen einen normalen Eosinophilenabfall (Durchschnitt –58%) bewirkte. Dagegen konnten *Gelfand* und Mitarb. (13) mit Aerosolapplikation von 25 mg ACTH an 6 Normalen keinen eosinopenen Effekt beobachten.

I.m. Injektion von 25 IE. ACTH ist die übliche Applikationsart des 4-Stunden-Testes. Ungenügend berücksichtigt ist, daß bei dieser Art der Verabreichung Resorptionsstörungen zu falschen Resultaten führen können. Als erste haben *Forsham* und *Renold* (14, 15) auf diese Tatsache hingewiesen, und in der Folge konnte dies wiederholt bestätigt werden, wie dies auch folgende vergleichende i.m.-i.v. Resultate (jeweils beim gleichen Patienten) zeigen:

Prozentualer Abfall der Eosinophilen in 4 Stunden nach ACTH

Injektionen		Infusionen	
i.m.	i.v.	i.m.	i.v.
—26	— 62	—49	—100
—18	— 69	—16	— 89
—33	— 75	—46	— 93
—29	— 78	—32	— 90

Ob es sich bei diesem Nichtwirken um eine zu langsame Resorption, lokale Gewebefixation, enzymatische Zerstörung oder andere Faktoren handelt, steht noch zur Diskussion. Eine ACTH-Resistenz durch fragliche AK-Bildung (*Levy* [16]) käme höchstens bei Patienten, die schon vorher hormonbehandelt wurden, in Frage. Es scheint möglich, wie verschiedene Autoren hervorheben, durch (4–8fache) Erhöhung der Einzeldosis eine Wirkung zu erzielen, was aber finanziell wenig erwünscht sein dürfte (*Ogryzlo*, *Pincus* [17, 18]). Die i.v. Durchführung des Testes scheint daher die rationellste; Fehlerquellen durch Resorptionsstörungen oder Inaktivierung am Ort der Injektion fallen weg, und es wird schon mit geringerer Dosierung ein deutlicher Effekt erzielt.

Beim *Sayers-Test* (19) – akute Ascorbinsäureverminderung der NNR nach ACTH-Injektion an hypophysektomierten Ratten – wird die Substanz intravenös verabreicht. *Sayers* und *Gordon* (20, 21) waren die ersten, die ACTH i.v. beim Menschen anwandten, und in der Folge wurden die Vorteile dieser Applikationsart gegenüber andern wiederholt bestätigt (22). Nebenerschei-

nungen – außer den durch Überdosierung oder zu lange Zufuhr bedingten – kommen äußerst selten vor (23–28).

I.v. Injektion als Test-Applikation wird in der Literatur kaum angeführt, was unter anderem vielleicht auf die Beobachtungen von *Forsham* und *Renold* (22) zurückzuführen sein mag. Diese Autoren fanden, daß rasche i.v. Injektion (in 30 Sek.) von ACTH zu keiner merklichen NNR-Aktivierung führt; spätere Untersuchungen derselben Autoren zeigten aber, daß diese Resultate durch unwirksame Präparate bedingt waren. *Nelson* (29) findet nach i.v. Injektion von 15 mg ACTH einen raschen, deutlichen Anstieg der 17-Hydroxycorticoide im Blut, mit Maximum nach 1 Stunde. Im Urin erfolgt eine vermehrte Ausscheidung der 17-Ketosteroide und Corticoide innerhalb der ersten 3 Stunden nach der Injektion und hört nach 6 Stunden auf (*Sayers*).

Testung mit ACTH i.v. Es wurden 5 IE. ACTH – gelöst in 7–10 cm³ physiol. NaCl – langsam injiziert. Es fand sich folgender Ausfall des Testes.

Gesamt	160
Wegen zu niederen Ausgangswerts (90 Eosinophile/cm ³) nicht zu beurteilen	17
Normaler Abfall (>50%)	106
Ungenügender Abfall (<50%)	37
davon gesicherte NNR-Insuffizienzfälle (3 primäre, 7 hypophysäre)	10
funktionelle Insuffizienz wegen vorangegangener Cortisontherapie [30]	2
bei Nachkontrolle (Präparatwechsel, Infusion) normal	14

Die übrigen 11 boten keine Anhaltspunkte für eine NNR-Insuffizienz (es wurden leider keine Nachkontrollen gemacht). Kontrolluntersuchungen mit dem Lösungsmittel zeigten keine nennenswerte Beeinflussung der Eosinophilenzahl.

Die sicherste Methode bleibt aber die *i.v. Dauerinfusion*, weil sie den physiologischen Verhältnissen am ehesten entspricht und bei gleichzeitiger Bestimmung der Eosinophilen und der Steroidausscheidung ein annähernd quantitatives Bild der NNR-Reserve ermöglicht (*Thorn*, *Renold* und Mitarb. [31, 22]). Eine Differenzierung zwischen primärer und sekundärer NNR-Insuffizienz ist auch am ehesten mit dieser Methode durchführbar. Bei 3tägiger Infusion (10–20 IE. in 500–1000 cm³ Flüssigkeit in 6–8 Stunden verabreicht) erfolgt bei hypophysär bedingter NNR-Insuffizienz eine zunehmende Steigerung der Steroidausscheidung im Urin und des Eosinophilenabfalles; im Gegensatz zu den gleichbleibenden oder verschlechterten Befunden bei primärer Insuffizienz (*Thorn* [31]).

b) Unwirksame Präparate

Bei 5 Fällen (ohne Anhaltspunkte für eine NNR-Insuffizienz) konnten vorher negativ ausgefallene Tests durch Wechsel der ACTH-Präparate normalisiert werden. Eine Resorptionsstörung kam nicht in Frage, da jeweils i.v. Applikation erfolgte.

4-Stunden-Abfall in % mit	
Präparat I	Präparat II
—40	—59
—40	—63
+14	—53
—29	—62
—34	—54

Ob es sich dabei um unwirksame oder nur mangelhaft wirksame Präparate handelte, kann mit Sicherheit nicht gesagt werden. Die Resultate sind nur angeführt, weil in der Literatur wiederholt auf die unterschiedliche Wirksamkeit einzelner ACTH-Präparate hingewiesen wird.

Diese werden bekanntlich aus Tierhypophysen (Schaf, Schwein, Rind u. a.) nach verschiedenen Extraktions- und Reinigungsverfahren hergestellt und in der Regel nach dem Sayers-Test oder Modifikationen desselben standardisiert. Es bestehen Aktivitätsunterschiede der einzelnen Präparate je nach Tierspezies und Herstellungsart (*Astwood* [32]), ebenso zeigen verschiedene ACTH-Produkte bei verschiedenen Bestimmungsmethoden unterschiedliche Wirksamkeit. Diskutiert wird, ob es sich dabei um verschiedene Faktoren des HVL-Hormons handelt (33, 34).

Obwohl allgemein die Aktivität beim Ascorbinsäuretest der Ratte ziemlich gut mit der klinischen Wirksamkeit übereinstimmt (32, 35), finden sich doch wiederholt Literaturangaben betreffend Nichtübereinstimmen der Wirksamkeit bei beiden Bestimmungen (*Kaine, Forsham, Ogryzlo* [17, 36–40]). Verschiedene Präparate, die beim Sayers-Test gleiche Aktivität zeigen, unterscheiden sich deutlich voneinander, sowohl bei ihrer klinisch-therapeutischen als auch eosinopenen Wirksamkeit. Diese Unterschiede sind allerdings vorwiegend quantitativ: während man mit dem einen Präparat schon mit 5 IE. einen deutlichen Effekt erzielt, bedarf es zum gleichen Effekt mit einem andern Präparat die doppelte oder noch höhere Dosierung. Die Bedeutung dieser Befunde, auch für den Thorn-Test, geht eindeutig aus der Arbeit von *Ogryzlo* (17) hervor.

Als Trockenpulver ist ACTH gut haltbar, aber in wäßriger Lösung tritt, je nach Herstellungsart und Reinheit, ein verschieden rascher und großer Aktivitätsverlust ein, so daß der angegebene Wert (in IE.) nicht mehr der tatsächlichen Wirksamkeit entspricht. Es sollte daher der Test nur mit frisch bereiteten Lösungen durchgeführt werden. Daneben kommen noch verschiedene andere physikalisch-chemische Faktoren in Frage, die die Stabilität und Wirksamkeit eines Präparates beeinflussen können (*Astwood* [32]).

c) Andere Faktoren

Neben diesen sicher festgestellten Fehlergebnissen durch mangelhaft resorbierte oder unwirksame ACTH-Präparate gibt es wahrscheinlich noch

andere Faktoren, welche die Aktivität eines an sich voll wirksamen Produktes beeinträchtigen können. Man denkt vor allem an eine enzymatische ACTH-Inaktivierung im Blut (Plasma) oder an eine abnorme Fixation in extra-adrenalem Gewebe: die Befunde von *Pincus, Ghosh, Richards* (41, 42, 52) sprechen für eine solche Möglichkeit, doch ist das Problem zur Zeit noch ungenügend abgeklärt (*Astwood* [32]). Auf andere hypothetische Faktoren (wie Antihormone, Antikörper) sei hier nur hingewiesen.

ACTH-Wirkungsmechanismus

Die ACTH-Effekte sind an eine intakte NNR gebunden; bis heute konnte mit Sicherheit keine direkte Wirkung des adrenocorticotropen Hormons (außer den durch NNR-Hormone bedingten) nachgewiesen werden (43).

Für die morphologischen und cytochemischen Veränderungen in der NNR nach ACTH-Stimulation sei auf die entsprechende Literatur verwiesen (44, 45). Auch ist die Frage des Angriffspunktes des ACTH bei der Corticoid-genese heute noch nicht gelöst (47, 233). Hervorgehoben sei hier jedoch der schnelle Eintritt der Wirkung, sowohl was die Ascorbinsäure- wie Cholesterinverarmung der NNR als auch die Ausschüttung der Corticoide betrifft. Mit markierten ACTH-Präparaten konnte die rasche und elektive Anreicherung desselben in der NNR verschiedentlich festgestellt werden (*Sonenberg, Rawson* [49, 50]). Die Radioaktivität in der Rinde nimmt aber graduell ab, und nach 2–4 Stunden kann keine mehr nachgewiesen werden. Die Abnahme (wahrscheinlich Inaktivierung) erfolgt um so schneller, je weniger gereinigt das injizierte Präparat ist. Auch verschwindet einmalig injiziertes ACTH ziemlich rasch aus der Zirkulation (*Greenspan* [51, 20]). Dies wird zum Teil auf Inaktivierung, zum Teil auf Organfixation zurückgeführt (*Richards, Geschwind, Hechter* [52, 53, 47]). Der Anstieg der NNR-Hormone nach ACTH-Injektion erfolgt prompt und klingt dann rasch wieder ab. Dies wurde in Perfusionsversuchen (*Hechter* [47]) tierexperimentell und beim Menschen (*Nelson* [29, 48]) nachgewiesen. Bei i.v. Injektion von ACTH findet *Nelson* (29) den maximalen Anstieg der 17-Hydroxycorticosteroide (im Blut) meist nach einer Stunde und Wiederkehr auf Ausgangswerte nach ca. 3 Stunden; bei i.m. Applikation ist das Maximum nach etwa 2 Stunden erreicht, der Ausgangswert nach 4–6 Stunden. Hingegen verläuft die Kurve bei Dauerinfusion weniger steil: langsames Ansteigen des Spiegels während der Dauer der Infusion und prompter Abfall bei Absetzen derselben. Der Gipfel (des Blutcorticoidgehalts) ist jedoch höher als bei einmaliger Injektion und die erforderliche Dosis geringer. Denn bei der Dauerinfusion bleibt der ACTH-Blutgehalt konstant hoch, und es wird so eine anhaltende (und mehr physiologische) Stimulierung der NNR erzielt. Parallel dazu wird der maximale Eosinophilenabfall bei einmaliger Applikation in der Regel 4 Stunden post injectionem, bei der Dauerinfusion aber (je nach Dauer derselben) 1–4 Stunden nach Absetzen erreicht. Ob bei diesen beiden

Arten der NNR-Stimulation ein verschiedener Wirkungsmechanismus in Frage kommt (Freisetzen schon vorhandener Hormone oder vorwiegend Förderung der Steroidsynthese), steht noch zur Diskussion. Jedenfalls erfaßt man mit einmaliger Injektion wahrscheinlich nur die momentane NNR-Reserve, während bei der Dauerinfusion, bzw. Wiederholung derselben, auch die maximale Leistungsfähigkeit (potentielle Reserve) der NNR ermittelt werden kann. Hierzu ist es aber erforderlich, die Steroidausscheidung im Urin gleichzeitig zu bestimmen (*Renold, Thorn* [22, 31]). Eine quantitative Bestimmung der NNR-Reserve mit den Eosinophilen als Indikatoren ist nicht möglich, denn schon relativ geringe Mengen Corticoid bewirken einen maximalen Abfall dieser Zellen, und eine weitere Zunahme der Sekretion ist somit nicht nachweisbar.

Ideal wäre natürlich, wenn einer normalen NNR-Reservekapazität eine dosierbare minimale ACTH-Dosis und dem Ausmaß der Reserve ein bestimmbarer prozentualer Eosinophilenabfall entsprechen würde. Solche Zusammenhänge konnten wir aber mit verschiedenen kleinen Dosen ACTH i.v. an verschiedenen Patienten nicht feststellen. Auch Literaturangaben zeigen, daß die minimal wirksame Dosis von Individuum zu Individuum wechselt, ohne daß daraus Rückschlüsse auf die relative Funktionskapazität der NNR gestattet wären. Sicher spielen hier für die «Ansprechbarkeit» der NNR noch andere unbekannte Faktoren mit.

II. Wirkungsorgan

Bisher wurden aus NNR (Extraktion, Perfusionsversuche, NN-Venenblut) ca. 28 verschiedene, meist C_{21} -Steroide isoliert, von denen aber nur 6 als biologisch aktiv gelten (54, 55). Ob diese nun tatsächlich alle als solche von der NNR sekretiert werden oder ob es sich schon zum Teil um Umwandlungsprodukte handelt, steht noch zur Diskussion. Als Hauptsekretionsprodukte der *normalen* NNR gelten allgemein 17-Hydroxycorticosteron und Corticosteron (*Pincus* [47, 55]). Es sind auch diese Corticoide die nach ACTH-Stimulation vermehrt ausgeschieden werden. Obwohl die Möglichkeit besteht, daß nur eine Partialfunktion der NNR gestört ist (*Paschkis* [59], *Recant* [60], *Hechter* [47]), so darf man doch in der Mehrzahl der Fälle, bei Ausfall der Glukocorticoidsekretion, auf eine «Gesamtinsuffizienz» der NNR schließen.

Die beiden erwähnten Steroide sind 11-OH-Verbindungen und zeigen im Tierversuch ausgesprochene Glykogenaktivität. Ihre spezifisch eosinopene Wirkung konnte von zahlreichen Autoren bestätigt werden (61–65). Besonders eingehend untersuchte *Halberg* (65) die Zusammenhänge zwischen chemischer Steroidstruktur und Wirkung auf die Eosinophilen; Steroide, die an normalen, adrenaletomierten und hypophysektomierten Tieren einen maximalen Eosinophilenabfall bewirken, zeigen folgende Charakteristika:

alle sind C_{21} -Steroide mit einer O-Gruppe in 11-Stellung, primärer α -Ketogruppe und Δ_{4-3} Ketongruppe. Wichtig ist auch die Erkenntnis, daß maximale Wirkung (Eosinophilenabfall, Glykogenablagerung) nicht von der Zahl, sondern von der Position der O-Gruppen abhängt. Unerläßlich ist ein O am C_{11} , eine zusätzliche OH-Gruppe in 17-Stellung verstärkt die Aktivität so wie dies zum Beispiel für das Compound F zutrifft.

Verschiedene Autoren konnten neuerdings die Parallelität zwischen Blut-Corticoidanstieg (als 17-Hydroxycorticoide) und Eosinophilenabfall nach ACTH bestätigen (*Nelson, Sandberg, Kelley* [66-68]). Dies dürfte ein weiterer Beweis für die Spezifität des Eosinophilen-Test für 11-17-Oxycorticosteroide sein. Neben der Spezifität einer Funktionsprüfung ist aber auch ihre Empfindlichkeit von wesentlicher Bedeutung. Der Eosinophilen-Test wird im Vergleich zu den andern NNR-Testen als der weitaus empfindlichere angesehen, d. h. es genügen zu einem Eosinophilenabfall Mengen Corticoide, die mit andern Methoden nicht nachweisbar sind. Diese «Empfindlichkeit» (= Ansprechen der NNR und der Eosinophilen) ist aber keine konstante Größe, sondern unterliegt Schwankungen aus Gründen, die man bisher nicht näher kennt. In Tierversuchen zeigen gewisse Mäusestämme schon mit 6 γ (Cortison) einen maximalen Eosinophilenabfall, wo ein anderer Stamm 100 γ und mehr benötigt. Ebenfalls wurden solche Unterschiede zwischen einzelnen Species nachgewiesen (*Spiers* [69]). Bei Menschen wurden ähnliche Beobachtungen gemacht; so konnten wir z. B. bei 3 Versuchspersonen schon mit 1 IE. ACTH i.v. einen über 50%igen Eosinophilenabfall finden, während 2 andere erst mit höherer Dosis «normal» reagierten. Kontrollen mit physiolog. NaCl i.v. zeigten keine wesentliche Veränderung der Eosinophilenzahl. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch ein Befund von *Sandberg* und Mitarb. (67), die bei einer Versuchsperson schon mit 0,2 IE. ACTH (i.v.) eine signifikante Erhöhung der 17-OH-Corticoide im Blut fanden, während andere höhere Dosen dazu benötigten. Noch ausgesprochener als bei Normalen treten solche Unterschiede bei Patienten (auch ohne erkennbare HVL-NNR-Störung) hervor. Verschiedene Autoren unterstreichen das unterschiedliche Verhalten des Eosinophilen-Tests (einmal positiv, dann negativ) bei wiederholter Durchführung, besonders bei chronisch Kranken (*Brenner, Best* [70, 71]). Unsere Resultate bei i.v. Test (5 IE.) (zweimalige Durchführung) sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Die zeitlichen Abstände zwischen den zwei Testen betrugen einige Tage bis Wochen; nicht angeführt sind solche, deren unterschiedlicher Ausfall durch Resorptionsstörungen oder fraglich unwirksame Präparate erklärt werden konnte. Auch nicht die, deren pathologisches Verhalten durch eine durch Cortisontherapie induzierte funktionelle Atrophie der NNR bedingt war (*Engleman* [30]). Interessant sind die beiden letzten Fälle: die pathologischen Eosinophilen-Tests wurden einige Tage ante exitum gefunden, während sie einige Monate (1 bzw. 3) vorher normal waren.

Tabelle 1

Eosinophilenabfall in % nach 4 Stunden			
1.	2.	1.	2.
—58	—71	—50	—57
—57	—59	—54	—75
—80	—84	—12	—40
—85	—67	0	+13
—56	—80	—52	—61
—70	—77	—77	—87
—76	—85	+16	+ 7
—46	—60	+14	—30
—63	—54	—56	—52
—55	—56	—34	—31
—70	—84	—76	+24
—59	—65	—63	0

Gelten solche Beobachtungen nun als Einwand gegen die Zuverlässigkeit des Thorn-Testes? Wir glauben nicht. Bei den in der Literatur angeführten Untersuchungen handelt es sich teils um Adrenalin-Teste, teils um i.m. Applikation von ACTH. Während ersterer streng vom ACTH-Test getrennt sein soll (vgl. später), müssen bei i.m. Anwendung Resorptionsstörungen und andere Fehlerquellen in Betracht gezogen werden. Dann ist – dies sei betont – der ACTH-Test eine *reine* NNR-Funktionsprüfung. Bei der 4-Stunden-Modifikation zeigt er einzig die momentane Reserve an 11-17-Oxy-corticoiden an; aber er sagt weder etwas aus über die maximale (potentielle) Reserve, noch über den *momentanen Bedarf oder Verbrauch* des Organismus. Auch gibt die Größe des Eosinophilenabfalles (ob —48 oder —60%) beim 4-Stunden-Test keine sicheren Anhaltspunkte für das Ausmaß der erfolgten Steroidsekretion, wegen der (schon erwähnten) unberechenbaren verschiedenen «Ansprechbarkeit» des Wirkungs- und Erfolgorgans. Ob diese nun durch wechselnde Reaktionslage, relative Refraktärperiode (*Recant* [60]), konstitutionelle oder andere Faktoren bedingt ist, bleibe dahingestellt.

In diesem Zusammenhang sei noch kurz auf ein Problem hingewiesen, das zwar zur Zeit noch ungenügend geklärt ist, aber gleichwohl für den Eosinophilen-Test von Bedeutung sein kann. Nämlich das Vorkommen von NNR-Dysfunktionen und dissoziierten NNR-Insuffizienzen. Klinisch sind derartige Fälle bekannt (*Paschkis* [59], *Recant* [60], *Ronchetti* [72]), auch weisen die wechselnden Krankheitsbilder bei Hypophysen- und NNR-Tumoren darauf hin (234, 235). Beobachtungen verschiedener Autoren (*Dobriner* u. a. [73–75]) zeigen, daß bei diversen Krankheiten die NNR (auch nach ACTH) sowohl quantitativ wie qualitativ von der Norm abweichende Steroide ausscheidet.

Auf die Rolle des HVL-NNR-Systems bei der Pathogenese rheumatischer

und allergischer Erkrankungen sei hier nicht eingegangen. Die Indikation zum Thorn-Test bei diesen Erkrankungen (vor allem Polyarthrit, Asthma bronchiale) ist in erster Linie eine therapeutische. Bei 50 Testen fanden wir bei solchen Kranken nur 4 pathologische; im Verlauf der Therapie (Infusionen) zeigten aber auch diese ein normales Verhalten der Eosinophilen.

Bemerkung: Bei Durchführung einer Hormonbehandlung sollten auch während und am Ende der Therapie Kontrollen der Eosinophilen bzw. des Eosinophilen-Tests durchgeführt werden, vor allem zur Überprüfung der NNR-Reaktivität bzw. der Wirksamkeit des angewandten Präparates. Ob langdauernde ACTH-Zufuhr zu einem Zusammenbruch der NNR führen kann, bleibt umstritten (*Weissbecker* [76]), außer wenn noch eine zusätzliche, meist toxische Noxe dieselbe trifft. Ferner kann eine corticogene Hypothyreose zu einer relativen ACTH-Resistenz führen, was u. a. durch ein Hochbleiben der zirkulierenden Eosinophilen erkannt werden kann (*Best* und Mitarb. [77]). Allergische Reaktionen auf bestimmte Produkte mit folgender Blut-eosinophilie sind auch beschrieben worden (*Zeligman* [27, 78, 79]).

Die oben erwähnten Hinweise gelten vor allem für die Interpretation des Thorn-Testes bei der Diagnose bzw. Differentialdiagnose der relativen NNR-Insuffizienz. Es sind ja gerade diese «Übergangsfälle», und nicht so sehr das ausgeprägte Addison-Bild, das der Kliniker mittels einer einfach durchführbaren Methode objektiviert haben möchte. Vorwiegend sind es chronische Krankheiten, wie Infektionen, gastrointestinale Störungen, Mangel- und Fehlernährungen, die zum Hypoadreniesyndrom führen.

Zur Überprüfung der NNR-Reaktivität machten wir bei einer Anzahl Patienten mit Tuberkulose und chronischer Enterocolitis den Thorn-Test.

a) Lungentuberkulose

Gesamt (4-Stunden-Test i.v.)	50
Normaler Ausfall	31
Pathologisch	12
Nicht verwertbar (Ausgangswerte < 90 Eosinophilen/mm ³)	7

Von den 12 pathologischen Testen zeigten 8 bei Wiederholung (Erhöhung der Dosis oder Infusion) normalen Abfall der Eosinophilen.

Autoptisch zeigte ein pathologischer Fall außer Entfettung der Rinde makroskopisch keine sichtbaren Veränderungen. (Der Test war einige Tage ante exitum durchgeführt worden.) Das gleiche Bild ergab die Sektion bei 2 Patienten mit normalem Eosinophilen-Test. Literaturangaben über Eosinophilen-Tests bei Tuberkulose zeigen kein übereinstimmendes Bild. Während *Brouet, Sims, Campbell* (80–82) in der Mehrzahl normales Verhalten des Thorn-Testes angeben, findet *Abelson* (83) bei 22 Patienten mit Lungentuberkulose 15 pathologische, *Finestone* (84) bei 50 Fällen 23 (es handelt sich aber bei letzteren um Adrenalin-Teste). Diese widersprechenden Ergebnisse können allerdings nicht wundernehmen, handelt es sich doch um sehr verschiedenartige Kranke. Eine Beurteilung ist nur von Fall zu Fall möglich und bei längerer Beobachtungszeit. Dasselbe zeigen ja auch pathologisch-anatomische Untersuchungen (*Aronson, Davenport, Kappert* [85–87]).

b) *Gastrointestinale Erkrankungen*

Auch bei verschiedenen gastrointestinalen Erkrankungen wird eine Mitbeteiligung des HVL-NNR-Systems vermutet, so vor allem bei Enterocolitiden, bei Sprue. Anschließend die Resultate des Thorn-Testes bei 8 Patienten mit chronisch-recidivierenden Durchfällen (Enterocolitis, Colitis ulcerosa, Sprue), die klinisch auch Hypadreniesymptome zeigten:

Eosinophilen-Test (Abfall der Eosinophilen in 4 Stunden).				
	Spontan	Test		Infusion
	%	(5 IE. ACTH i.v.)		%
		%		
Ri.	—31	—65		
Wi.	+27	—75		
Ba.	—25			—85
Sch.	—10	—90		—100
Boe.	—43	—54	—63	—89
Me.	+11	—12	—40	
Re.		—80	—83	
Br.	—45	—70	—84	—97

Letzter Fall (Br.) zeigte das typische Bild des Spruesyndroms. Die Bedeutung bzw. das Mitbefallensein der NNR bei Sprue sind bekannt (*Thay-sen, Best, Díez Rivas*), die genauen pathogenetischen Zusammenhänge aber noch ungeklärt (88–90).

Auch bei dieser Patientin ließ das klinische Bild an einen NNR-Schaden denken. Dieser konnte aber durch Laboratoriumsuntersuchungen nicht bestätigt werden. Hypoglykämie, flache BZ-Kurve bei Doppelbelastung, pathologischer Robinson-Kepler I (91) (ungenügende Diurese bei Wasserbelastung) sind bei Sprue und andern Durchfallskrankheiten bekannt, und können auf die gestörten Resorptionsverhältnisse bezogen werden. Robinson II (empirische Formel, die sich drei Anomalien bei Addison-scher Krankheit zunutze macht: verminderte Harnstoffausscheidung, vermehrte Chlorausscheidung und verringerte Wasserdurese; normal, wenn der Wert größer ist als 30) war normal. 17-Ketosteroide im Urin betrugen bei der Patientin 8,2 mg/24 Std., 3 Tage nach ACTH-Infusionen: 51,0 mg/24 Std. Nach Beobachtungen von *Díez Rivas* (90) ist bei Sprue die 17-Ketosteroid-Ausscheidung auffallenderweise bei Männern stärker vermindert als bei Frauen.

Therapeutisch zeigte sich auf hohe Dosen parenteral zugeführter Vitamine (A, B-Komplex, C, D, K und Folsäure) keine Besserung des Krankheitsbildes, hingegen erfolgte diese prompt auf ACTH-Infusionen (Schwinden der Steatorrhöe, verbesserte Fettresorption, Zunahme des Körpergewichts).

c) Andere Hypoadrenie-Fälle

An sich unspezifische Symptome wie Asthenie, Adynamie, Gewichtsabnahme, Anorexie können bei gleichzeitiger Hypotonie, Hypoglykämie u. a. zur Vermutungsdiagnose einer relativen NNR-Insuffizienz führen. (Die Differentialdiagnose dieses Krankheitsbildes sowie die der Hypotonie und Hypoglykämie sei hier nicht diskutiert; vgl. *Thorn, Meakins, Skillern* [10, 92, 93]).

Der Thorn-Test bei 11 solchen Patienten zeigte normales Verhalten. Bei 2 war die Verdachtsdiagnose durch pathologisches Verhalten des Robinson-Testes und durch fehlende Steigerung der 17-Ketosteroid-Ausscheidung bekräftigt worden. Bei den übrigen ergaben auch andere NNR-Funktionsproben normale Resultate.

Der erste Fall betraf eine 39jährige Frau mit asthenisch-adyndemem Syndrom, Abmagerung, normochromer Anämie. Psychisch: depressiv, apathisch. Blutzucker subnormal, Doppelbelastung normal. Elektrolyten, BD und GU o. B. *Robinson I* wiederholt pathologisch. Hingegen Thorn-Test 2mal normal (—55 und —61%). 17-Ketosteroide im Urin 10,3 und 12,5 mg/24 Std.; nach ACTH-Infusion (10 IE. in 8 Stunden) Abfall der Eosinophilen um 96%. Anstieg der 17-Ketosteroide auf 21,4 mg/24 Std. Leberfunktion normal. Volhard I und II *pathologisch*. Diagnose: Psychasthenie, Nephropathie.

Fall 2. 63jähriger Patient mit recidivierender Bronchitis bei Emphysem, Cor pulmonale, Rechts-Insuffizienz. Wegen Hypoglykämie und Hypotonie Verdacht auf NNR-Mitbeteiligung. *Robinson* pathologisch. 17-Ketosteroide 7,8 mg/24 Std., nach ACTH 6,9 mg/24 Std. Thorn-Test: —67%. Harnstoff erhöht (60 mg%). Leberfunktion: Takata und Hanger pathologisch. Bluteiweiß: Hypalbuminämie. Der Zustand des Patienten besserte sich auf kardiale Therapie. Die relative NN-Insuffizienz bleibt fraglich. Eine Nachkontrolle der NNR-Teste wurde leider nicht gemacht.

Angeführt wurden diese beiden Fälle vor allem, um auf Fehlbeurteilung der NNR-Funktionsproben aufmerksam zu machen. Ein pathologischer Robinson-Test ist nicht für NNR-Insuffizienz pathognomonisch. Neben andern endokrinen Störungen wie hypophysären Erkrankungen, Hypothyreose müssen in erster Linie Leber- und Nierenstörungen ausgeschlossen sein sowie enterale Resorptionsstörungen (*Levy, Gaunt* [91, 94]). Verminderte 17-Ketosteroid-Ausscheidung kommt auch vor bei chronischer Unterernährung (*Dingemans, Landau* [95, 96]), bei Anorexia nervosa (*Berkman* [97]) und bei diversen Leberkrankheiten, vor allem Cirrhose. Wichtig ist, daß hier der Anstieg nach ACTH öfters verspätet eintritt: im Gegensatz zu der herabgesetzten 17-Ketosteroid-Elimination sind die Werte für Oxycorticoide im Urin meist normal oder erhöht, ACTH-Teste normal (*Bongiovanni* [99]), Testosteronbelastung führt auch zu keiner vermehrten 17-Ketosteroid-Ausscheidung im Urin (*Lloyd, Marti, Warter* [98, 100, 101]). Diese Beobachtungen sprechen für eine Störung des intermediären Steroidstoffwechsels.

Es ist sicherlich falsch, die NNR allein in den Mittelpunkt stellen zu wollen und andere Organe oder primär pathogenetische Mechanismen zu übersehen. Auch wäre es unrichtig, von einem Thorn-Test das letzte Wort zu er-

warten; man kennt ja bei der relativen NNR-Insuffizienz den typischen schubweisen Verlauf, das Hervortreten des funktionellen Momentes, die Vielfältigkeit der kausalen und pathogenetischen Faktoren, das uneinheitliche pathologisch-anatomische Bild. Und nur eine wiederholte Durchführung verschiedener Funktionsprüfungen wird Rückschlüsse auf die Aktivität und Mitbeteiligung des hypophysär-adrenalen Systems mit einiger Sicherheit gestatten.

Bekanntlich ist ohne Hypophyse (ACTH) die Nebennierenrinde ein schlummerndes Organ. Außer für hohe Dosen Kalium und ATP in Perfusionsversuchen – konnte bis jetzt keine direkte Wirkung anderer Substanzen auf die NNR-Sekretion nachgewiesen werden (*Vogt, Hechter* [102 bis 105]). Ferner wird öfters übersehen, daß alle Nicht-ACTH-Teste im Grunde Funktionsproben des gesamten Systems sind, und Aussagen über NNR-Aktivität nur bei intakter corticotroper Funktion des HVL gestatten. Bei zahlreichen Hypadenrie-Fällen kann man ein Nichtübereinstimmen der einzelnen Funktionsproben beobachten sowie, daß sie häufig, außer auf Cortison und DOCA, auch gut auf ACTH-Therapie ansprechen. Eine primär insuffiziente NNR wird aber kaum auf dieses reagieren. Handelt es sich also um eine relative Insuffizienz der endogenen ACTH-Produktion oder anderer zentraler Regulationsmechanismen? Man weiß, daß Eiweiß- oder Aminosäure-Mangeldiät bei Tieren zu einer subnormalen «Stress-Aktivierung» der NNR führen, im Gegensatz zu einer normalen Reaktion bei exogen zugeführtem ACTH (*Bernheim, Handler* [106]). Bei chronisch unterernährten Ratten kommt es zu einem «Pseudohypophysektomie-Syndrom» mit sekundärer Involution der NNR (*Mulinos* [107]). Neben Fettverarmung und Atrophie der NNR wurden auch regressive Veränderungen im Bereich des HVL bei Menschen infolge chronischer Unterernährung beschrieben (*Uehlinger* [108, 109, 44]). Gerade solche Fälle von Mangel- oder Fehlernährung, ob infolge enteraler Resorptionsstörungen oder organisch oder psychogener Anorexie, zeigen häufig neben pathologischen Eiweißverhältnissen im Serum ungenügende Spontanaktivität des HVL-NNR-Systems (verminderte 17-Ketosteroid-Ausscheidung), subnormale Resultate bei den indirekten Funktionsproben, aber normales Reagieren auf ACTH. Es bleibt jedoch fraglich, ob ein Therapieerfolg ohne weiteres für einen tatsächlichen Mangel des Hormons beweisend ist. Es könnte ja auch die Reizschwelle des HVL erhöht sein. Welche Mechanismen neben der humoralen Selbstregulierung die Aktivität des HVL-NNR-Systems beeinflussen, bleibt auch heute trotz einer Unzahl experimenteller Befunde noch ungeklärt (46, 110, 111). Die Beteiligung hypothalamischer und höheren Zentren des ZNS ist nach den Arbeiten von *Colfer, Hume, Porter, Sims* (112–115) sowie den klinischen Beobachtungen von *Perloff* und Mitarb. (116) wahrscheinlich. Zur Diskussion steht aber noch, ob eine Zerstörung oder Unerregbarkeit der nervösen Zentren zu einer funktionellen Insuffizienz des HVL-NNR-Systems, und eo ipso

zu einer Beeinträchtigung des Thorn-Testes führen kann. Man denkt hier vor allem an die psychogenen Hypopituitosen, Anorexia nervosa und diverse andere Psychosen. Nach *Pincus* (117) und *Hoagland* (118) soll bei Schizophrenie (wo der Thorn-Test häufig pathologisch ausfällt) eine adrenale Dysfunktion vorliegen; hingegen ist es nach *Friedländer* (119) eine Überempfindlichkeit der HVL-Sekretion, die bei Schizophrenen zu einer frühzeitigen Erschöpfung des Systems führen soll (120).

Während man früher annahm, solche primär hypophysär bzw. «suprahypophysär» bedingte NNR-Störungen mit dem Adrenalin-Test erfassen zu können, muß dies heute abgelehnt werden.

Adrenalin-Test

Schon *Eppinger* u. a. (121–123) kannten die eosinophilenvermindernde Wirkung des Adrenalins, und *Babes* und *Jonesco* (124) beobachteten bereits 1908 eine NNR-Hypertrophie nach wiederholter Adrenalininjektion beim Kaninchen. Es sind aber vor allem die Arbeiten von *Vogt*, *Long*, *Hume*, *McDermott* (102, 110, 113, 125), die die Beziehungen zwischen Adrenalin und NNR eindeutig klärten, und auf Grund dieser und eigener Beobachtungen führte *Recant* (60) den Adrenalin-Test in die NN-Diagnostik ein. Es kann heute wohl kein Zweifel bestehen, daß dieser Wirkstoff zu einer Aktivierung des HVL-Systems führt. Nur sind die Meinungen betreffs des Angriffspunktes des Adrenalins und des eosinopenen Wirkungsmechanismus geteilt. Eine direkte Wirkung auf die NNR kann nach den Befunden von *Hechter* (104) und *Vogt* (102) mit einiger Sicherheit ausgeschlossen werden. Zahlreiche Beobachtungen an hypophysektomierten und adrenaletomierten Tieren sowie der vermehrte ACTH-Gehalt des Blutes nach Adrenalin (*Farrell* [126], *Gemzell* [127]) weisen auf die Hypophyse als Angriffspunkt. Ob diese Aktivierung der corticotropen HVL-Sekretion aber nun durch direkte Wirkung auf die Drüsenzellen, durch primäre Stimulation übergeordneter Zentren oder indirekt durch Verminderung des Blutcorticoidtiters erfolgt, ist nicht abgeklärt (*Long* [110]).

Eine weitere offene Frage bleibt die Wirkung auf die Eosinophilen. Waren die Ergebnisse mit dem Adrenalin-Test schon klinisch enttäuschend, so fehlten auch andere Indizien für eine NNR-Aktivierung nach Adrenalin. Es fehlte die vermehrte Ausscheidung der 17-Ketosteroide (*Dresner*, *Recant*, *Jeffries* [128, 60, 129]), es folgte keine Zunahme des Blutcorticoidgehaltes (*Nelson*, *Sandberg*, *Kelley* [130, 67, 68, 236]) und es wurden wiederholte Beobachtungen eines normalen Eosinophilenabfalles (nach Adrenalininjektion) bei sicheren Addison-Fällen mitgeteilt. Eine direkte Adrenalinwirkung auf die Eosinophilen wurde diskutiert (*Ruppel* [131]), jedoch konnte eine solche bis jetzt nicht bewiesen werden. Die Befunde bei Addison-Patienten sowie bei bilateral adrenaletomierten (aber mit NNR-Hormon behandelten) sprechen am ehesten für eine peripher synergistische Wirkung, zwischen Adre-

nalin und Corticoiden (*Sandberg* [67]). Gerade bei Adrenalin muß man aber auch an reine Kreislauftaktoren denken: eine Vasokonstriktion kann einen Abfall, eine Vasodilatation der Kapillaren, eine Erhöhung der Eosinophilen vortäuschen. Der Kurvenverlauf (der Eosinophilen) nach Adrenalin spricht für eine solche Interpretation (*Hení* [132]).

Wenn also wohl eine Adrenalinwirkung auf die NNR via HVL experimentell gesichert ist, so muß doch der Adrenalin-Test zur Überprüfung dieses Systems heute als unzuverlässig gelten, worauf auch *Thorn* (31) hinweist. Einmal ist die Zahl der Fehlermöglichkeiten zu groß und nicht vorhersehbar, und ferner der genaue Wirkungsmechanismus und die Gegenregulationen unabgeklärt. (Das gleiche gilt auch für andere Sympathicomimetica wie Ephedrin oder Adrenochrom, die zu diesem Zweck angewandt wurden.)

III. Erfolgsorgan (Eosinophile)

Bei dem Thorn-Test sind die eosinophilen Granulocyten die morphologischen Indikatoren der erfolgten NNR-Sekretion. Da in erster Linie ihr quantitatives Verhalten interessiert, müssen die angewandten Zählmethoden genügend genau sein, um rein methodische Fehler auszuschließen und auch nicht zu kompliziert und zeitraubend, um als klinische Untersuchungsmethode Anwendung zu finden. Ferner ist es wohl wichtig, einige Kenntnisse über das normale und pathologische Verhalten dieser Zellen zu haben sowie über den Wirkungsmechanismus des Eosinophilenabfalles nach ACTH.

A. Zählung der Eosinophilen

Die Differentialzählung gefärbter Ausstriche eignet sich zu diesem Zweck nicht. Es kommen nur die direkten Kammerzählmethoden in Frage, wo die Zellen durch die Zählflüssigkeit spezifisch angefärbt und so leicht ermittelt werden können. Die Technik ist relativ einfach; nur ist es wichtig, die Fehlermöglichkeiten der Methode zu kennen, um unnötige falsche Resultate zu vermeiden.

Angaben über Kammerzählmethoden für Eosinophile findet man schon in der älteren Literatur; so beschreibt schon 1888 *B. Mayet* (133) eine Eosin-Glycerin-Methode für Eosinophilenzählung, 1892 *Zappert* (134) eine Modifikation derselben. Aber keine fand Eingang in die Klinik, auch nicht die, in der Folge von *Zollikofer* und *Riebes* (135, 136) angegebenen. Sie waren teils zu kompliziert, teils war die Färbung ungenügend oder es wurden auch die Erythrocyten mitgefärbt. Die erste brauchbare Färbetechnik, die auch heute noch zum Teil angewandt wird, stammt von *Dunger* (137). In der Folge wurden Modifikationen dieser Zählmethode angegeben, die aber keine wesentliche Verbesserung des Originals darstellen (*Rud, Camara* und Mitarb., *Speirs* [138–140]). Einen sicheren Fortschritt hingegen bedeutet der Zusatz von Propylenglykol zu der Farbstofflösung (*Randolph* [141]). Es wurden noch eine Anzahl anderer Zählflüssigkeiten beschrieben, die aber gegenüber der Randolphschen Technik keine besonderen Vorteile zeigen (*Manners, Pilot, McFarlane, Hinkleman, Holzbauer, Larsson, Bertrand* [142–148]).

Wir verwendeten zu unsern Untersuchungen die von *Henneman* (149) beschriebene Modifikation der Randolphi'schen Lösung. Sie enthält 0,1% Phloxin in Propylenglykol und Aqua dest. Bei Bestimmungen mit der Dungerschen Technik konnten wir im wesentlichen die in der Literatur angeführten Nachteile derselben bestätigen. Anschließend kurze Besprechung:

Die Methodik nach *Dunger* ist heikler und die Fehlermöglichkeiten – bei nicht peinlicher Genauigkeit – ziemlich groß. Die Zählflüssigkeit besteht aus Eosin (als Farbstoff), Aceton und Wasser. Letztere bewirken Anschwellen und Ruptur der Zellmembranen, jedoch nicht der Eosinophilen, die resistenter gegenüber dem lytischen Effekt des Wassers sind. Als Kriterium für eine gute Lösung gibt *Speirs* (140) an: Die Eosinophilen sollen deutlich mit ungeschädigten Zellmembranen und gut gefärbten Granula hervorstechen; alle andern Leukocyten sollen unsichtbar oder als ungefärbte Zellen mit geschrumpfter Membran, und keine Erythrocyten sichtbar sein. Bei zu geringer Acetonkonzentration oder alkalischer Lösung bersten auch die Zellmembranen der Eosinophilen und die Granula treten aus. Hingegen sind bei zu hoher Acetonkonzentration alle Leukocyten meist deutlich erkennbar, auch einige Erythrocyten und die Eosinophilen nur schwach angefärbt.

Die von <i>Thorn</i> angegebene Lösung enthält:	Wässeriges Eosin 2%	5
	Aceton	5
	Aqua dest.	90

Die Lösung darf nicht älter als 14 Tage sein, soll verschlossen im Eisschrank aufbewahrt und vor Gebrauch filtriert werden. (Vorsicht wegen der Verflüchtigung des Acetons und so Abnahme von dessen Konzentration.) Oder es wird eine Stammlösung hergestellt, zu der jeweils vor Gebrauch Aceton (10–15%) zugesetzt wird.

Nach Aufziehen des Blutes (das frei fließen soll und nicht länger als ein paar Sekunden aus der Einstichstelle getreten sein soll) und der Zählflüssigkeit, wird die Pipette *sofort* etwa 30mal leicht hin- und herbewegt (*nicht* kräftig geschüttelt) und anschließend in die Kammer eingefüllt. Die Auszählung erfolgt nach 2–3 Minuten, jedenfalls nicht länger als nach 5 Minuten. Es ist wichtig, die Kammern möglichst sofort nach der Verdünnung einzufüllen und auszuzählen. Denn sonst kommt es, ebenso wie durch zu kräftiges Schütteln auch zu Zerstörung der Grenzmembran der Eosinophilen, Austreten der Granula. Es resultieren unweigerlich zu niedere Resultate. Während bei genauem Einhalten dieser Vorschriften die Werte ziemlich gut mit denen der Phloxin-Propylenglykol-Methode übereinstimmen, findet man bei längerem Aufbewahren der Eosinophilen in acetonhaltigen Lösungen eine deutliche Verminderung, wie dies folgende Beispiele zeigen:

Aceton-Eosin	Phloxin-Propylenglykol
Eosinophile/mm ³	Eosinophile/mm ³
47	96
50	94
31	109
116	320
35	128

Die Auszählung erfolgte 20–30 Minuten nach Entnahme des Blutes. Auf diese Abnahme der Zellen haben vor allem auch schon *Henneman*, *Smart*, *Uhrbrand* (149–152) aufmerksam gemacht. In feuchter Atmosphäre kann dies verhindert werden. Ein

weiterer Nachteil dieser Methode ist, daß an Zellmembranen sich auflösender Zellen Klumpen eosinophiler Granula sich anlagern oder durch Niederschläge vorgetäuscht werden sowie daß es häufig zu Aggregatbildungen der Eosinophilen kommt, so daß eine exakte Auszählung verunmöglicht ist.

Die Fehlerquellen dieser Methode dürften sicher vermeidbar sein, jedoch für Routineuntersuchungen, wo oft ungenügend auf solche Vorsichtsmaßregeln aufgepaßt werden kann, ist doch der Randolpischen Technik den Vorzug zu geben.

Diese Lösung (nach *Henneman* und Mitarb.)

Phloxin	0,05 g
Propylenglykol	50,0 cm ³
Aqua dest.	50,0 cm ³

ist isotonisch (pH 7,4); sie kann längere Zeit in verschlossenen (besser dunklen) Flaschen aufbewahrt werden, ohne Abnahme der Färbekapazität. Bei sauberer Herstellung ist Filtrieren vor Gebrauch nicht nötig, ebenso nicht Aufbewahren im Eisschrank. Ein weiterer Vorteil ist, daß es nicht zur Lyse der Zellen kommt; einzig werden die Eosinophilen angefärbt, die sich deutlich durch ihre leuchtend rote Farbe von den andern Leukocyten abheben. Die Erythrocyten bleiben unsichtbar. (Gelegentlich findet man bei einzelnen Patienten nur eine sehr schwache Anfärbung der Eosinophilen, so daß sie nur bei optimaler Beleuchtung und stärkerer Vergrößerung unterschieden werden können; die Ursache dieser mangelhaften Färbung ist nicht bekannt.) Wegen der erhöhten Viskosität der Lösung ist es unbedingt erforderlich, die Pipetten nach Aufziehen mindestens 3 Minuten kräftig zu schütteln, um möglichst ideale Verteilung der Zellen zu erzielen; nach Einfüllen in die Zählkammern muß vor dem Auszählen 20–30 Minuten abgewartet werden, um optimale Anfärbung der Eosinophilen zu gewährleisten. In der Pipette – und dies ist auch ein Vorteil gegenüber den andern Lösungen – kann die Blutprobe 12 Stunden und länger liegen bleiben, ohne daß eine Abnahme der Zellzahl eintreten würde. Ein Zusammenballen der Eosinophilen in der Kammer konnten wir mit dieser Lösung nicht beobachten.

(Wichtig ist, die Pipetten sauber und trocken zu halten, vor allem sollen keine sauren Reste – Eisessig – mehr zurückbleiben, sonst kann man gelegentlich ein Ausflocken der Lösung und Sichtbarwerden der Erythrocyten beobachten, was die Auszählung erschwert.)

Neben diesen, durch die Zählflüssigkeiten gegebenen Fehlermöglichkeiten, sei noch kurz auf andere, durch methodische Mängel bedingte, hingewiesen. Selbstverständlich ist eine saubere und genaue Blutentnahme. Ob Unterschiede zwischen Venen- und Kapillarblut bestehen, ist noch umstritten (153–156), aber unwesentlich, sofern man gleichbleibende Technik anwendet und bei der praktisch leichter durchführbaren Kapillarblutentnahme – wie auch bei andern Blutbestimmungen – darauf achtet, freifließendes Blut sofort in die Pipette aufzuziehen. Man soll womöglich für eine Untersuchung die gleichen (geeichten Leukocyten-)Pipetten und dieselben Zählkammern verwenden. Am besten eignen sich solche mit großem Rauminhalt.

Wir verwendeten, wie meist üblich, die Fuchs-Rosenthal-Kammer (3,2 mm³). (Neuerdings sind auch Spezialzählkammern für Eosinophile entwickelt worden, so von *Speirs* [157, 158].) Verdünnt wird gewöhnlich 1:20, bei niederen Eosinophilenwerten aber nur 1:10, damit eine möglichst große Zahl Zellen ausgezählt werden kann. Pro Patient werden je 2 Pipetten und 4 Zählkammern verwendet, in jeder

Kammer alle Eosinophilen im Gesamtfeld bestimmt. Der Durchschnittswert der 4 Kammern multipliziert mit dem Faktor 6,25 (bei 1:20 Verdünnung) ergibt die Eosinophilenzahl pro mm³. Auf die Verteilung der Zellen als Fehlerquelle haben vor allem *Best* und *Mitarb.* (71) hingewiesen.

B. Normalwerte der Eosinophilen

1. Absolute Zahlen

Literaturangaben über basale Normalwerte der Eosinophilen zeigen eine ziemlich große Streuung, was nicht zuletzt auf Verschiedenheit der Zähltechnik, des Untersuchungsmaterials, der Zeit und Umstände der Blutentnahme zurückzuführen sein dürfte. Die angeführten Mittelwerte liegen in der Mehrzahl zwischen 125 und 225, der als normal geltende Streuungsbereich ist 70–450 (*Muehrcke* [139], *Fisher* und *Mitarb.* [160], *Rud* [138], *Roche* [161] u. a. [10]). Zahlen unter 70 gelten als Eosinopenie, solche über 450 als Eosinophilie (*Best* [77]). Einem einzigen Befund kommt aber, außer wenn die Zahlen deutlich von der Norm abweichen, keine allzu große Bedeutung zu.

Bei NNR-Insuffizienz findet man meist normale bis leicht erhöhte Eosinophilenwerte (10) (mit Neutropenie und Lymphocytose; *de la Balze* [162, 163]), doch ist auch hier der diagnostische Wert einer einmaligen Bestimmung gering. Erhöhte Eosinophilenzahlen findet man bei einer Vielzahl von Krankheiten und die bei Ausfall der NNR-Funktion zu erwartende Eosinophilie findet man keineswegs regelmäßig. Unterdrückung des Knochenmarkes als Folge schwerer Hypophysen- oder Schilddrüsenfunktion führt auch bei sicherer NNR-Insuffizienz zu einer Eosinopenie (*Thorn* [19]). Charakteristischer für eine ungenügende Steroidproduktion ist das Ausbleiben der stressbedingten Eosinopenie bei Patienten mit NN-Insuffizienz. Dies konnten wir auch bei 2 Patienten mit (autoptisch) nachgewiesener NNR-Zerstörung beobachten. Der eine Fall zeigte trotz schwerem Schock und Meningismus prä mortal 280 und 306 Eosinophile/mm³; der andere mit Pneumonie und starken Schmerzen 253 und 175 Zellen/mm³, 2 bzw. 3 Tage ante exitum. Im Gegensatz dazu findet man bei Patienten mit intakter NNR deutliche Eosinopenie auf akuten «Stress» hin, wie dies z. B. folgende Fälle zeigen:

Herzinfarkt	20 Eosinophile/mm ³
Spontanpneumothorax	44 Eosinophile/mm ³
Anoxämischer Anfall	59 Eosinophile/mm ³
Postoperativer Schock	5 Eosinophile/mm ³
Epileptischer Anfall	59 Eosinophile/mm ³

Ähnliche Beobachtungen sind wiederholt in der Literatur angegeben und deren diagnostische (und prognostische) Bedeutung diskutiert (*Thorn* [164], *Roche* [161], *Ellestad* [165], *Jennings* [166], *Sevitt* [187], *Faloon* [168], u. a. [169, 170, 241]). Rückschlüsse sind aber nur bei fortlaufender Kontrolle der Eosinophilen bzw. des Eosinophilen-Tests statthaft. Auch ist zu beachten, daß an sich eine Eosinopenie wohl durch die gesteigerte NNR-Aktivität bedingt sein kann; aber sie ist kein Indikator für den momentanen Mehrbedarf

des kranken Organismus. Es genügen die ausgeschiedenen Steroidmengen zur Verminderung der Eosinophilen, aber nicht für die gesteigerten Bedürfnisse. Und es ist unrichtig, allein aus der beobachteten Eosinopenie Rückschlüsse auf die NNR bzw. HVL-NNR-Aktivität zu ziehen (*Jennings* [166], *Buchan* [171]). Beim Diabetiker hat man mittels der BZ-Bestimmung die Möglichkeit, den gesteigerten Insulinbedarf zu erkennen, leider besteht aber für die NNR-Sekretion noch keine solche Nachweismöglichkeit! Zum Beispiel zeigten 2 Fälle (postoperativer Schock und schwer toxische Tuberkulose) ausgesprochene Eosinopenie und normale 17-Ketosteroid-Ausscheidung; ein akutes Versagen der NNR würde demnach unwahrscheinlich sein. Jedoch genügte anscheinend, wie der prompte Erfolg mit ACTH-Infusionen zeigte, die «spontane» Aktivität der NNR nicht zur Überwindung der akuten Krankheitsphase (*Reveno* [172] und Mitarb.). Gleich wie bei der durch Stress bedingten NNR-Hyperfunktion ist bei endogenem Hyperadrenocorticismus (Cushing), besonders bei aktiven Fällen, häufig eine Eosinopenie zu finden (*Thorn* [164]). Dagegen zeigen Fälle von Hirsutismus, Virilismus oder Adipositas (ohne Steigerung der 11-17-Oxysteroid-Sekretion) meist normale Eosinophilenwerte. (Es versteht sich, daß vorerst andere Zustände – körperliche oder seelische Belastung, Medikamente – als Ursache einer Eosinopenie, eliminiert sein müssen.) Anschließend Eosinophilenzahlen bei 3 Cushing-Fällen und 5 andere mit Verdacht auf Cushing, der aber bei weiterer klinischer Untersuchung ausgeschlossen werden konnte.

Nicht-Cushing Eosinophile/mm ³		Cushing Eosinophile/mm ³	
I.	588	C.	0 0
J.	163	G.	83 64
K.	216	V.	63 58
M.	279		
V.	156		

2. Spontanschwankungen der Eosinophilen

Wichtiger als diese Absolutwerte (und auch häufig als Kritik des Thorn-Testes angeführt) sind die im Verlauf des Tages auftretenden Spontanschwankungen der Eosinophilen sowie die (allerdings unvollständigen) Kenntnisse von Faktoren, die diese beeinflussen.

Schon *Sabin, Shaw, Smith* (173–175) haben auf das Vorkommen von Schwankungen der Eosinophilenzahl im Verlauf von 24 Stunden hingewiesen, ohne aber einen regelmäßigen Tagesrhythmus zu erkennen. *Von Domanrus* (176) fand schon ziemlich regelmäßig eine Erhöhung der Eosinophilen während des Nachtschlafes und ein Absinken in den ersten Stunden nach dem Erwachen. Nach *Appel* (177) liegt das Tagesmaximum gegen 07.00 Uhr, ein Minimum um 10.00 Uhr, dann folgt ein progredientes Ansteigen bis

19.00 Uhr, während nachts die Zahlen ziemlich konstant hoch bleiben. Dieses für den 24stündigen Eosinophilenrhythmus typische Tagesprofil wurde auch von *Djavid, Rud* (178, 138) beschrieben, und ist heute allgemein anerkannt. Nur sind die Ansichten über die Größenordnung dieser Spontan-schwankungen sowie deren Beziehungen zum HVL-NNR-System geteilt.

Bei 8 von 52 Normalindividuen findet *Rud* (138) einen morgendlichen Abfall von über 50% des Ausgangswertes, bei einem Durchschnitt von -7,6% (von +60 bis -85%); *Fisher* und Mitarb. (160) bei 95 nüchternen Versuchspersonen in 11%, bei 75 nicht hungernden in 9,3% einen > 50%igen Abfall. *Halberg* (179) beobachtet Tagesschwankungen von $\pm 36\%$ mit einem Minimum um 09.30 Uhr. Nach *Best* und Mitarb. (77) beträgt der mittlere morgendliche Abfall 20%. Für weitere Ergebnisse vgl. Literatur (*Hills, Recant, Kellgren, Abelson, Donato, Heni, Swanson, Herbert, Lützenkirchen* [60, 83, 132, 180-186]).

Eigene Beobachtungen

Gesamtzahl	73
Absinken der Eosinophilen über 50%	3
Absinken der Eosinophilen von -30 bis -50%	8
Absinken der Eosinophilen von 0 bis -30%	38
Anstieg der Eosinophilen von 0 bis +30%	21
Anstieg der Eosinophilen über 30%	3

(Die Patienten waren meist in Bettruhe, wennmöglich ohne Medikamente, Frühstück war gestattet.) Zeit: 07.30 und 08.00 bis 12.00 Uhr. Der durchschnittliche Abfall beträgt -9% (von +32 bis -70%). Auffallend ist, daß es sich bei den Patienten mit 50%igem Abfall 2mal um vegetativ Labile handelte, beim Dritten lautete die Diagnose Psoriasisarthritis, Herzinsuffizienz. Der Patient klagte über starke Schmerzen, erhielt aber während der Untersuchung keine Analgetica. Außerdem war der Ausgangswert niedrig (82 Eosinophile/mm³); bei einer zweiten Untersuchung betrug der Spontanabfall nur -20%.

Angeführt sind hier noch die Resultate bei 5 andern Patienten mit vegetativer Dystonie - im Vergleich auch die Werte des Eosinophilen-Tests.

Eosinophile (4 Stunden)	
Spontan- schwankungen %	ACTH-Test %
-56	-91
-53	-94
-10	-90
+32	-74
-36	-84
-31	-65
+27	-56

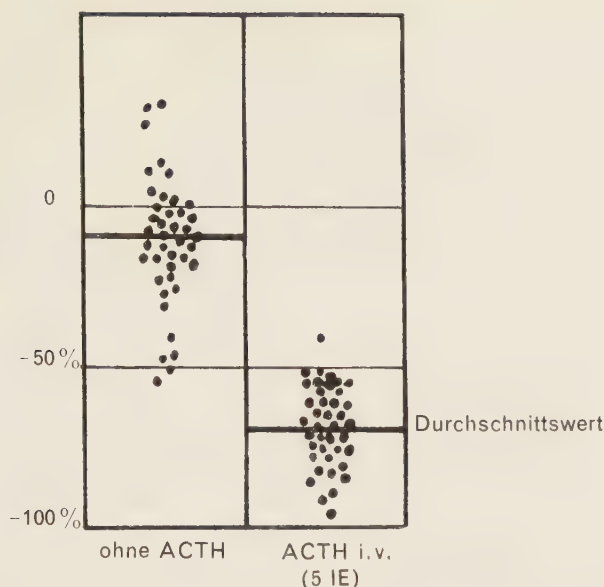


Abb. 1. Abfall der Eosinophilen (in %, nach 4 Stunden) bei 40 Patienten ohne HVL-NNR-Insuffizienz.

Die Abb. 1 und 2 zeigen noch die Vergleichsresultate – mit und ohne ACTH – bei den gleichen Patienten, durchgeführt zur selben Tageszeit und unter den gleichen Bedingungen.

Die Abhängigkeit des Eosinophilenrhythmus vom HVL-NNR-System steht noch zur Diskussion. Periodische Veränderungen der NNR-Aktivität wurden beschrieben (*Pincus, Grad* [187, 188]). In welchem Zusammenhang diese aber mit den Eosinophilenchwankungen stehen, bleibe dahingestellt. Aufschlußreich sind Beobachtungen von *Halberg* (189, 190), die über ein Verschwinden des normalen Eosinophilenrhythmus bei primärer und sekundärer NNR-Insuffizienz berichten. Auch *Recant* und Mitarb. (60) finden bei Addison-Patienten, im Gegensatz zu Normalen, relative Konstanz der Eosinophilenkurven. Dagegen beobachtet *Bonner* (191) solche nur bei Patienten mit Panhypopituitarismus, nicht aber bei primärer NNR-Insuffizienz.

Jedoch ist für die Größenordnung der Spontanschwankungen (besonders des Abfalles der Eosinophilen) das HVL-NNR-System maßgeblich entscheidend. Bekanntlich ist dieses ungewöhnlich empfindlich auf eine Vielzahl an sich sehr verschiedener Reize, wie dies durch zahlreiche tierexperimentelle und klinische Beobachtungen dargelegt werden konnte (*Selye* [192]). Nicht nur stärkere körperliche Belastungen (*Kuhl, Bilger* [193–195]), diverse pathologische Zustände (wie Traumen, Verbrennungen, Fieber, starke Schmerzen, Anoxämie usw.), zahlreiche Pharmaka und toxische Substanzen

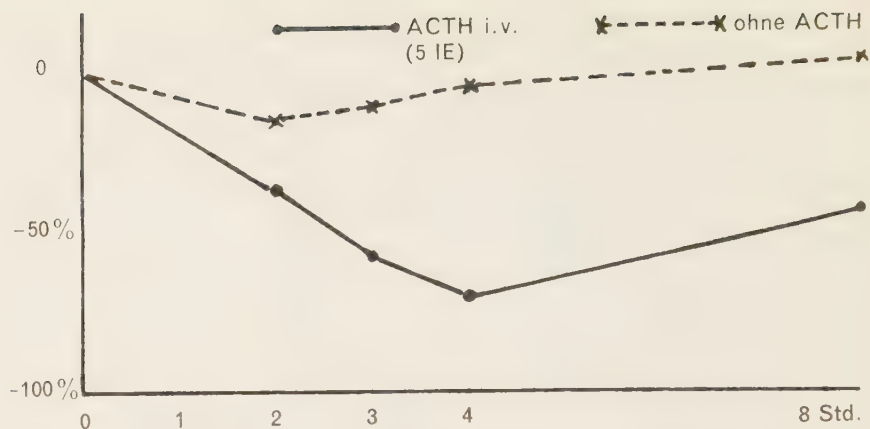


Abb. 2. Durchschnittswerte bei 28 NNR-gesunden Patienten; zum Vergleich zwischen dem Verhalten der Eosinophilen mit und ohne ACTH.

führen durch «unspezifische Stresswirkung» zu einem Absinken der zirkulierenden Eosinophilen, sondern ein solches kann auch durch seelische Momente bedingt sein (*Dreyfuss, Renold* [196, 197]). Ob bei einzelnen Individuen – in Parallele zu vegetativ Labilen – die Reizschwelle für das HVL-NNR-System eine niedrigere ist als bei Normalen, ist fraglich.

Wenn also dieses endokrine System sicher eine Rolle bei der Regulation der eosinophilen Leukocyten spielt, so wäre es aber falsch, dieses allein in den Mittelpunkt zu stellen. Die Bedeutung einer normalen Knochenmarkaktivität versteht sich ohne weiteres. In Betracht kommen außerdem wechselnde Tonusverhältnisse des autonomen Nervensystems, Filterfunktion der Lunge, Regulationen durch die Milz, Kreislauftaktoren u. a. Wegen der zur Zeit noch unklaren Übersicht über diese verschiedenen Faktoren, sei hier nicht näher darauf eingegangen.

Neben dem Vorkommen der Eosinophilenschwankungen im Verlauf des Tages, beschrieb *Rud* (138) noch kurzfristige (von Minute zu Minute) von $+60\%$. Solche Zahlverschiebungen würden natürlich den Ausfall eines Eosinophilen-Tests wesentlich beeinflussen können. Es ist aber fraglich, ob es sich dabei nicht um Zählfehler handelt (*Smart* [150], *Hení* [132]). In Parallele dazu sei der Leukocytensturz nach diversen Reizen erwähnt (*Müller, Steinberg, Bluntschli* [198–200]).

Wegen des möglichen Vorkommens eines spontanen Abfalles der Eosinophilen haben verschiedene Autoren vorgeschlagen, den ACTH-Test nachmittags durchzuführen (*Swanson, Bonner* [183, 191]).

3. Wirkungsmechanismus des Eosinophilenabfalles

Das Problem der 11-17-oxysteroid-bedingten Eosinopenie nach ACTH ist noch ungeklärt. Vorausbemerkt sei, daß für die zahlreichen Pharmaka (wie Salicylate, Dibenamin, Methionin, Insulin, Pyrifer u. a.) ein intaktes HVL-

NNR-System Voraussetzung ihrer eosinopenen Wirkung ist. Betreffs Adrenalinwirkung vgl. S. 18.

Eine spezifische eosinophilenvermindernde Wirkung konnte bis jetzt nur für die 11-17-Oxycorticosteroide nachgewiesen werden. (*Harris* und Mitarb. [201] fanden allerdings bei normalen und adrenaletomierten Ratten ein signifikantes Abfallen der Eosinophilen und Lymphocyten durch Dicarboxyl-Aminosäuren.)

Für jede der vorliegenden Hypothesen liegen positive Indizien vor, einen definitiven Entscheid gestatten sie jedoch nicht.

a) *Drosselung des Nachschubes aus dem Knochenmark*. Während des peripheren Eosinophilensturzes kommt es nicht zu einer gleichartigen Veränderung im Knochenmark. Im Gegensatz nehmen, laut der Mehrzahl der Beobachtungen, die Markeosinophilen zu, besonders die Myelo- und Metamyelocyten. Nur bei chronischer Zufuhr von Cortison beobachten *Gordon* und Mitarb. (202) eine Markeosinopenie bei adrenaletomierten Ratten; *Donohue* (203) eine solche bei Behandlung einer eosinophilen Leukämie. So nimmt z. B. *Bethell* (204) eine selektive Hemmung der Ausreifung der Eosinophilen über das Myelocytenstadium hinaus an, und die daraus resultierende Ausschwemmungssperre würde die periphere Eosinopenie erklären. Es bleibt aber fraglich, ob diese Befunde den Schluß auf eine Ausreifungs- bzw. Ausschwemmungssperre gestatten. Falls man nicht doch eine gleichzeitige periphere Wirkung der betreffenden Steroide annimmt, würde diese Hypothese eine Lebensdauer der Eosinophilen von nur einigen Stunden voraussetzen, was aber bis jetzt nicht erwiesen ist. *Essellier* und Mitarb. (205) nehmen eine Gesamtlebensdauer von 6 Tagen bzw. 1–2 Tagen für bereits ausgeschwemmte Eosinophile an. Dies stimmt mit den allgemein angenommenen Werten für die (Gesamt-)Leukocyten überein. Beachtenswert ist aber die für Granulocyten errechnete Lebensdauer von 7 Stunden (*Lawrence* und Mitarb. [206]) sowie Beobachtungen von *Yoffey* (207) mit markierten Lymphocyten, und dessen Schluß, daß ihre Lebensdauer einige Stunden nicht überschreiten würde. Ähnliche Nachweise für Eosinophile sind nicht bekannt.

b) *Periphere Verteilungsstörung*. Insbesondere der rasche Wiederanstieg nach der erfolgten Eosinopenie legt die Annahme einer vorübergehenden Stapelung nahe. Nur herrscht keine Einigkeit darüber, wo diese erfolgt, und ob die momentan zurückgehaltenen Eosinophilen wieder ausgeschwemmt würden, oder ob der Nachschub ausschließlich aus dem Knochenmark erfolge. Zum Beispiel nehmen *Solomon* und Mitarb. (208) eine solch «reine» Stapelung mit anschließender Ausschwemmung an; über das «wo» geben sie aber keine genaue Auskunft.

In erster Linie wurde immer wieder die Milz als Retentions- (und auch Abbau)-Organ angesprochen und dementsprechende Beobachtungen mitgeteilt (*Spain, Fruhman, Heuss, Pfeiffer* [209–212]). Jedoch sprechen sowohl klinische wie tierexperimentelle Befunde eines normalen Eosinophilen-

abfalls auch nach Splenektomie *gegen* diese Annahme. Auch konnte *Solomon* bei Hunden keine zahlenmäßigen Eosinophilendifferenzen im Milzarterien- und -venenblut nach NNR-Aktivierung feststellen.

Weiter wird die Beteiligung der Lunge, deren Filterfunktion für Leukozyten wohlbekannt ist (239, 240), beim Zustandekommen des Eosinophilenabfalles diskutiert. Ob eine spezifische Zurückhaltung derselben (Größe, Agglutination?) in den Lungenkapillaren, bedingt durch die NNR-Hormone, erfolgt, bleibt fraglich. *Kark* und Mitarb. (212a) fanden bei Herzkatheterisierung im rechten Herzen höhere Eosinophilenwerte als im aortalen Blut: allerdings nur in $\frac{1}{3}$ der Fälle waren die Unterschiede statistisch signifikant. Funktionell denkt man auch an Zusammenhänge mit dem lokalen Histaminstoffwechsel (238); eine Antihistaminsubstanz in den Eosinophilen wurde beschrieben (*Kovacs* [213]).

Die schon von *Stäubli* (214) vertretene Auffassung – einer negativen Chemotaxis und Abwanderung ins Gewebe – wird auch zur Erklärung herangezogen (*Dougherty* [45]). *Romani* (46) berichtet über eine Zunahme der Eosinophilen im lockeren Bindegewebe (ubiquitär) nach diversen Stresswirkungen (Verbrennung, Formalin, Adrenalin), aber nach Cortison oder ACTH-Applikation verschwinden auch diese – ausgewanderten oder lokal entstanden – eosinophilen Granulozyten. Ob auch noch andern Organen, z. B. der Leber, bei diesen supponierten Verteilungsstörungen eine Bedeutung zukommt, bleibt abzuklären. Schon 1910 berichteten *Bertelli* und Mitarb. (122) über eine vorübergehende Vermehrung der Eosinophilen in der Leber nach Adrenalininjektion, während in der Peripherie eine ausgeprägte Eosinopenie vorlag.

Wein auch vasomotorische Momente (Verschiebungen innerhalb verschiedener Gefäßgebiete) mitspielen, so dürfte dies doch nicht der alleinige Faktor sein, und das entscheidende bleibt sicher eine periphere «Zerstörung». Allerdings bleibt dabei die Frage offen, *wo* (ob ubiquitär oder nur in bestimmten Gebieten) sich diese abspielt und *wie*, ob durch direkte Einwirkung der Corticoide oder indirekt durch Fermentaktivierung bzw. Beeinflussung der Membranpermeabilität der Zelle.

c) *Periphere Cytolyse*. Die Hypothese einer direkten (spezifischen) Zerstörung der Eosinophilen durch NNR-Hormone wurde bereits früher geäußert, doch blieben schlüssige Beweise aus. In-vitro-Versuche ergaben widersprechende Resultate. *Robertson*, *Delaunay* und *Baldrige* (217–219) fanden keine direkte lytische Wirkung von NNR-Wirkstoffen auf die isolierten Lymphocyten (die ja beim Thorn-Test auch abnehmen). *Schrek* (220) glaubte eine Verminderung der Lebensfähigkeit von Thymuszellen und Lymphocyten nachgewiesen zu haben. Nach *Hechter* und Mitarb. (221) sei es nötig, zu den Zellsuspensionen Homogenate von lymphatischem Gewebe zuzusetzen, um eine Lyse der isolierten Lymphocyten zu erzielen. Solche Beobachtungen lassen die Frage entstehen, ob diese Homogenate einen «Co-

Faktor» oder einen andern Stoff enthalten, der erst die Wirkung der Corticoide ermöglicht. Eine fragliche Parallele zu diesen Ergebnissen in vitro zeigen Tierversuche von *Herlant* (222). NNR-Hormone in Schwellendosen bewirken an adrenaletomierten Ratten keine Thymolyse, ebensowenig diverse Stresseinwirkungen. Werden aber beide gleichzeitig verabfolgt, so resultiert die typische Thymolyse. Diskutiert wird, ob durch den Stress «Co-Faktoren» freiwerden und die Erfolgsorgane auf den Steroideffekt «sensibilisieren»; oder verstärkt das Hormon nur eine schon vorhandene Reaktion?

Die Literaturangaben über Wirkung von NN-Steroiden auf Eosinophile in vitro sind widersprechend. Die einen konnten keine Beeinflussung dieser Zellen durch Cortison im Reagensglas beobachten (223, 164, 237). Hingegen ist nach *Muehrcke* (225) mit defibriniertem Blut eine spezifisch eosinolytische Wirkung der 11-17-Oxycorticoide zu erzielen, welche durch Heparinzusatz blockiert werden kann (vgl. 226).

Eigene Resultate

Eosinophilenverminderung in % nach 4 Stunden

Zusatz zu 3 cm ³ Blut		
+2 mg %	+1 mg %	+0,6 mg %
—64	—30	—6
—39	—23	0
—48	—35	—8
—53	—12	

Das Blut wurde sofort nach Entnahme (bei Patienten mit Eosinophilie) in einem Schüttelkolben mit Glasperlen (steril) defibriniert; davon je 3 cm³ mit Zusatz in ein kleines siliconisiertes Reagensglas und während 4 Stunden im Wasserbad bei 37° C gehalten. Verwendet wurde Cortisonacetat (Mikrokristallsuspension). Für 3 Versuche (0,6 mg) freies Cortison, gelöst in Propylenglykol. Jeweilige Kontrollen mit physiol. NaCl bzw. Propylenglykol zeigten keine Veränderungen der Zellen nach 4 Stunden. Wir glauben aber (auch wegen der kleinen Zahl der Versuche) die Ergebnisse von *Muehrcke* nicht voll bestätigen zu können, denn bei der höheren Dosierung wurden auch die übrigen Leukocyten quantitativ und morphologisch verändert, so daß man eher einen allgemein cytotoxischen Effekt annehmen muß. In Deckglaskulturen konnten *Gross* und Mitarb. (223) keine Wirkung von Cortison auf Eosinophile beobachten; Zusatz von Milzextrakten veränderte das Bild nicht.

Godlowski (226) glaubt die eosinolytische Wirkung der Corticoide durch eine katabolische Beeinflussung des intracellulären Proteinstoffwechsels erklären zu können. Die Eosinophilen seien am empfindlichsten auf diese

Wirkung, nächst dem die Lymphocyten und dann die Neutrophilen. In vivo würde dieser Effekt auf die Nicht-Eosinophilen durch deren raschere Mobilisation maskiert. Diese Annahme steht in Parallele zu der bekannten Wirkung der NNR-Hormone auf den Eiweißstoffwechsel. *Kit* (227) konnte an isolierten Lymphocyten, mit markierten Aminosäuren (Glycin u. a.) ebenfalls Befunde erheben, die für eine Hemmung der cellulären Proteinsynthese sprechen.

Andere Anhaltspunkte für eine cytolytische Wirkung der NN-Steroide auf Eosinophile bieten die Beobachtungen von *Padawer* und Mitarb. (228). Nach Cortison und auch nach Adrenalininjektion kommt es zu einer Zunahme der normalerweise nur in geringer Zahl vorhandenen «degenerierenden Eosinophilen», sowohl in der Peritonäalflüssigkeit als auch im peripheren Blut. Die Autoren vermuten eine Beschleunigung der normalen Abbauvorgänge durch die Steroide und anschließende Phagocytose des RES. *Essellier* und Mitarb. (229) finden nach Blockierung des RES eine Aufhebung der eosinopenen Wirkung der NNR-Hormone (nach ACTH oder Cortisonapplikation) und führen dies u. a. auf eine dadurch bedingte Störung des normalen Abbaumechanismus zurück.

Ob die Eigenagglutinabilität der Eosinophilen bei deren Verschwinden eine Rolle spielt ist ungeklärt. Heparin verhindert die Eosinopenie nach ACTH (*Godlowski*), wie es auch nach *Muehrcke* die in vitro Wirkung von Cortison hemmen soll.

Nach *Laves* und *Thoma* (230) kommt der Arginase eine spezifische Wirkung auf eosinophile Granulocyten zu, was auch mit den histochemischen Untersuchungen von *Vercanteren* (231) betreffs Arginingehalt der eosinophilen Granula in Einklang steht.

Schließlich sei noch erwähnt, daß *Laves* (232) auch eine Beeinflussung des Desoxyribonucleinsäure-Stoffwechsels der Eosinophilen und Lymphocyten durch Corticosteroide annimmt. Bei diesen Fermenthypothesen wäre allerdings ungeklärt, warum es zu keiner Beeinträchtigung der Markeosinophilen kommt.

Zusammenfassung

Parenterale Zufuhr von ACTH gestattet die Überprüfung der NNR-Reaktionsfähigkeit auf ihren natürlichen Aktivator. Als Indikator der erfolgten Funktionssteigerung gelten die zirkulierenden Eosinophilen, deren Abnahme im peripheren Blut auf einer spezifischen Wirkung der 11-17-Oxycorticosteroide beruht. Diese Steroide bilden die Hauptfraktion der normalen NNR-Sekretion.

Der auf diesen Tatsachen beruhende Thorn-Test ergab zuverlässige klinische Anhaltspunkte zur Beurteilung der momentanen Funktionsfähigkeit der NNR. Rückschlüsse auf die Gesamtreserve sowie auf den peripheren Bedarf an NNR-Hormonen sind aber bei einmaliger Durchführung des Testes

nicht statthaft. Auch ist der prozentuale Abfall der Eosinophilen kein quantitativer Indikator der NNR-Funktion.

Aufmerksam wird gemacht auf die durch die Methodik bedingten falschen Resultate. Unwirksame bzw. mangelhaft wirksame ACTH-Präparate oder die angewandte Applikationsart können auch bei funktionstüchtiger NNR zu einer ungenügenden Stimulation derselben führen. Vergleichsuntersuchungen bei i.m. und i.v. Verabreichung sowie nach Wechsel des Präparates weisen auf diese möglichen Fehlerquellen hin. Den 4-Stunden-Eosinophilen-Test führten wir mit i.v. Injektion von 5 IE. ACTH statt der üblichen i.m. Applikation durch. Bei schwierigen oder zweifelhaften Fällen ist unbedingt die i.v. Infusion (10–20 IE. ACTH in 500–1000 cm³ physiol. NaCl oder 5% Glukoselösung, über 6–8 Stunden) anzuwenden, und neben der Kontrolle der Eosinophilen (vor und 8–10 Stunden nach Beginn der Infusion) sollte auch die Steroidausscheidung im Urin geprüft werden.

Die in der Literatur angeführten Spontanschwankungen der Eosinophilen wurden bestätigt; doch scheint die Größenordnung derselben von der HVL-NNR-Aktivität beeinflusst zu werden. Abnorme vasomotorische Reaktionen müssen ausgeschlossen werden. Desgleichen methodische Fehler der Eosinophilenzählung.

Die vorteilhaftesten Zählflüssigkeiten sind solche, die Propylenglykol enthalten. Um verwertbare Durchschnittswerte zu erhalten ist es wichtig, eine genügend große Zahl Zellen in der Kammer auszuzählen. Bei zu niederen Ausgangswerten (unter 90 Eosinophile/mm³) ist die Bewertung des Testes nicht sicher. Auch zu hohe Gesamtzahlen der Eosinophilen (über 1000/mm³) können bei einmaliger ACTH-Applikation einen ungenügenden Abfall bedingen, ohne daß eine NNR-Störung vorläge. Bei intensiver Stimulation (Infusion) kommt es dann doch zu normalem Absinken der Zellen.

Der Wirkungsmechanismus des Eosinophilenabfalles nach ACTH bleibt ungeklärt.

Der 4-Stunden-Eosinophilen-Test gestattet eine Differenzierung zwischen primärer und sekundärer NNR-Insuffizienz nicht. Auch der Adrenalin-Test eignet sich hierzu nicht. Hingegen bieten bei täglich (2–3 Tage) wiederholten ACTH-Infusionen die progrediente Zunahme des Eosinophilenabfalles und Steigerung der Steroidsekretion im Urin wertvolle Hinweise auf eine durch Störung der corticotropen Funktion des HVL bedingten NNR-Insuffizienz.

1. Wharton, J.: Phil. Trans. act. **63** (1846). – 2. Ehrlich, P.: Z. klin. Med. **1**, 559 (1880). – 3. Schwarz, E.: Erg. Path. **17**, 137 (1913). – 4. Stephan, R.: Med. Klin. **22**, 679 (1926). – 5. Catel, W., und Jedas, M.: Mh. Kinderhk. **47**, 301 (1930). – 6. Harlow, C. M., und Selye, H.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 141 (1937). – 7. Dalton, A. J., und Selye, H.: Fol. haemat. (D.) **62**, 397 (1939). – 8. Selye, H.: J. clin. Endocrin. **6**, 117 (1946). – 9. Thorn, G. W., Forsham, P. H., Prunty, F. T. G., und Hills, A. G.: J. amer. med. Assoc. **137**, 1005 (1948). – 10. Thorn, G. W.: The Diagnosis and Treatment of adrenal insufficiency. C. C. Thomas, Springfield 1949. – 11. Nelson, D. H., und Samuels, L. T.: J. clin. Endocrin. **12**, 519 (1952). – 12. Smith, R. W. jr., Dickson, L. C., Bryan, J. B., und Lowrie, W. D.: J. clin. Endocrin. **12**, 958 (1952). – 13. Gelfand, M. L., und Shearn, M. A.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **80**, 134 (1952). – 14. Forsham, P. H., Renold, A. E., und Frawley, T. F.: J. clin. Endocrin. **11**, 757 (1951). – 15. Renold, A. E., Forsham, P. H., Maisterrena, J., und Thorn, G. W.: New Engl J. Med. **244**, 796 (1951). – 16. Levy, F. M., und Corbeel, L.: C. r. Soc. Biol. **146**, 442 (1952). – 17. Ogryzlo, M. A., und Gornall, A. G.: J. clin. Endocrin. **13**, 165 (1953). – 18. Pincus, G., Hoagland, H., Freeman, H., und Elmadjan, F.: Rec. Progr. Hormon. Res. **IV**, 291 (1949). – 19. Sayers, M. A., Sayers, G., und Woodbury, L. A.: Endocrinology (Am.) **42**, 379 (1948). – 20. Sayers, G., Burns, T. W., Tyler, F. H., Jager, B. V., Schwartz, T. B., Smith, E. L., Samuels, L. T., und Davenport, H. W.: J. clin. Endocrin. **9**, 593 (1949). – 21. Gordon, E. S.: J. Labor. clin. Med. (Am.) **36**, 827 (1950); Gordon, E. S., Kelsey, C., und Meyer, E. S.: Proc. II. Clin. ACTH Conf., Vol. II, 30 (1951). – 22. Renold, A. E., Jenkins, M., Forsham, P. H., und Thorn, G. W.: J. clin. Endocrin. **12**, 763 (1952). – 23. Wilson, L. A.: Lancet **2**, 478 (1951). – 24. Cape, R. D. T., Carruthers, E. P., Palmer, R. A., und McIntosh, H. W.: Lancet **2**, 111 (1952). – 25. Feinberg, S. M., Feinberg, A. R., und Bigg, E.: J. amer. med. Assoc. **147**, 40 (1951). – 26. Brown, E. M. jr., und Hollander, J. L.: Proc. II. Clin. ACTH Conf. **2**, 392 (1951). – 27. Zeligman, I.: J. amer. med. Assoc. **149**, 263 (1952). – 28. West, H. F.: Lancet **2**, 543 (1952); **1**, 1308 (1952). – 29. Nelson, D. H., Samuels, L. T., Willardson, D. G., und Tyler, F. M.: J. clin. Endocrin. **11**, 1021 (1951). – 30. Engleman, E. P.: Arch. int. Med. (Am.) **91**, 1 (1953). – 31. Thorn, G. W.: J. clin. Endocrin. **13**, 614 (1953). – 32. Astwood, E. P., Raben, M. S., und Payne, R. W.: Rec. Progr. Hormon. Res. **VII**, 1 (1952). – 33. Reinhardt, W. O., Geschwind, I. I., und Li, C. H.: Acta endocrin. **8**, 393 (1951). – 34. Reinhardt, W. O., und Li, C. H.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **77**, 229 (1951). – 35. Prunty, F. T. G., Clayton, B. E., und McSwiney, R. R.: J. Endocrinol. **7**, XXII (1951). – 36. Kaine, H.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **81**, 412 (1952). – 37. Forsham, P. H., Lee, M., Kolb, F. O., und Liddle, G. W.: J. clin. Endocrin. **12**, 956 (1952). – 38. Mote, J. R.: Proc. I. Clin. ACTH Conf. **82** (1950). – 39. Editorial: J. amer. med. Assoc. **147**, 326 (1951). – 40. Ansell, B.: Lancet **2**, 1164 (1951). – 41. Pincus, G., Hechter, O., und Hopkins, Th.: J. clin. Endocrin. **12**, 920 (1952). – 42. Ghosh, B. H., Richards, J. H., Merkins, M., Burns, T. W., Brown, D. M., Sayers, G., und Smith, E. L.: Fed. Proc. **9**, 176 (1950). – 43. Jacot, B., und Selye, H.: Endocrinology (Am.) **50**, 254 (1952). – 44. Baker, B. L.: Rec. Progr. Hormon. Res. **VII**, 331 (1952). – 45. Selye, H., und Stone, H.: On the experimental morphology of the adrenal cortex. C. C. Thomas, Springfield 1950. – 46. Sayers, G.: Amer. J. Med. **10**, 539 (1951). – 47. Hechter, O., Zaffaroni, A., Jacobsen, R. P., Levy, H., Jeanloz, R. W., Schenker, V., und Pincus, G.: Rec. Progr. Hormon. Res. **VI**, 215 (1951). – 48. Nelson, D. H.: Rec. Progr. Hormon. Res. (Diskussion) **VI**, 243 (1951). – 49. Sosenberg, M.: Ciba Found. Coll. Endocrin., **IV**: 229, 1952; Proc. II. Clin. ACTH Conf. **I**, 1 (1951). – 50. Rawson, R. W.: Rec. Progr. Hormon. Res. **VI**, 245 (1951) (Diskussion). – 51. Greenspan, F. S., Li, C. H., und Evans, H. M.: Endocrinology (Am.) **46**, 261 (1950). – 52. Richards, J. B., und Sayers, G.: J. clin. Endocrin. **11**, 756 (1951). –

53. *Geschwind, I. I., und Li, C. H.*: Endocrinology (Am.) **50**, 226 (1952). – 54. *Jacobson, R. P., und Pincus, G.*: Amer. J. Med. **10**, 531 (1951). – 55. *Haines, W. J.*: Rec. Progr. Hormon. Res. VII, 255 (1952). – 56. *Bush, I. E.*: Biochem. J. (Brit.) **50**, 370 (1952). – 57. *Conn, J. W., Louis, L. H., und Fajans, S. S.*: Science **113**, 713 (1951). – 58. *Staudinger, H.*: Probleme des HVL-NNR-Systems, I. Freiburger Sympos., Springer Verlag, 1953. – 59. *Paschkis, K. E., und Cantarow, A.*: Ann. int. Med. (Am.) **34**, 669 (1951). – 60. *Recant, L., Hume, D. M., Forsham, P. H., und Thorn, G. W.*: J. clin. Endocrin. **10**, 187 (1950). – 61. *Forsham, P. H., Thorn, G. W., Prunty, F. T., und Hills, A. G.*: J. clin. Endocrin. **8**, 15 (1948). – 62. *Laurent, F.*: Thèse, Paris 1951. – 63. *Speirs, R. S., und Meyer, R. K.*: Endocrinology (Am.) **48**, 316 (1951). – 64. *Spiess, T. D., und Stone, R. E.*: Lancet **2**, 890 (1950). – 65. *Halberg, F.*: J. Pharmacol. (Am.) **106**, 135 (1952). – 66. *Nelson, D. H., Sandberg, A. A., Palmer, J. G., und Tyler, F. H.*: J. clin. Invest. (Am.) **31**, 843 (1952). – 67. *Sandberg, A. A., Nelson, D. H., Palmer, J. G., Samuels, L. T., und Tyler, F. H.*: J. clin. Endocrin. **13**, 629 (1953). – 68. *Kelley, V. C., Elly, R. S., Raile, R. B., und Bray, P. F.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **81**, 611 (1952). – 69. *Speirs, R. S.*: Rec. Progr. Hormon. Res. VII, 104 (1952) (Diskussion). – 70. *Brenner, L. O., Waife, S. O., und Wohl, M. G.*: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **37**, 593 (1951). – 71. *Best, W. R., Muehrcke, R. C., und Kark, R. M.*: J. clin. Invest. (Am.) **31**, 733 (1952). – 72. *Ronchetti, F., und Grassi, B.*: Fol. endocrin. **3**, 233 (1951). – 73. *Dobriner, K., Lieberman, S., Wilson, H., und Dunham, M.*: Proc. II. Clin. ACTH Conf. I, 65 (1951). – 74. *Venning, E. H.*: Symp. Steroid Hormones 49 (1950). – 75. *Mittelman, A., Romanoff, L. P., Pincus, G., und Hoagland, H.*: J. clin. Endocrin. **12**, 831 (1952). – 76. *Weissbecker, L.*: Probleme des HVL-NNR-Systems, I. Freiburger Sympos. 1953. – 77. *Best, W. R., Kark, R. M., Muehrcke, R. C., und Samter, M.*: J. amer. med. Assoc. **151**, 702 (1953). – 78. *Videbaek, A.*: Acta endocrinol. **9**, 37 (1952). – 79. *Liddle, J.*: Labor. a. clin. Med. (Am.) **40**, 1 (1952). – 80. *Brouet, G.*: Rev. Tbc. (Fr.) **15**, 590 (1951). – 81. *Sims, E. A. H., Welt, L. G., Orloff, J., und Needham, J. W.*: J. clin. Invest. (Am.) **29**, 1545 (1950). – 82. *Campbell, G. D., Biggs, R. H., und Borwell, H.*: Amer. Rev. Tbc. **66**, 364 (1952). – 83. *Abelson, D., und Moyes, E. N.*: Lancet **2**, 50 (1950). – 84. *Finestone, A. J., und Shuman, C. R.*: Amer. Rev. Tbc. **64**, 630 (1951). – 85. Zit. bei 82. – 86. Zit. bei 82. – 87. *Kappert, A.*: Helv. med. Acta, Suppl. XX (1947). – 88. *Thaysen, T. E. H.*: Arch. Mal. Appar. digest. (Fr.) **24**, 123 (1934). – 89. *Best, C. H., und Taylor, N. B.*: The physiological basis of Medical practice, Ed. 4. Williams & Wilkins 1945. – 90. *Diéz Rivas, F., Morales, F. H., und Koppisch, E.*: J. amer. med. Assoc. **150**, 647 (1952). – 91. *Levy, M. S., Power, M. H., und Kepler, E. J.*: J. clin. Endocrin. **6**, 607 (1946). – 92. *Meakins, J.*: Physiol. Rev. (Am.) **7**, 431 (1927). – 93. *Skillern, P. G., und Rynearson, E. H.*: J. clin. Endocrin. **13**, 587 (1953). – 94. *Gaunt, R., Birnie, J. H., und Eversole, W. J.*: Physiol. Rev. (Am.) **29**, 281 (1949). – 95. *Dingemanse, E., Huis in't Veld, L. G., und de Laat, B. M.*: J. clin. Endocrin. **6**, 535 (1946). – 96. *Landau, R. L., Knowlton, K., Anderson, D., Brandt, M. B., und Kenyon, A. T.*: J. clin. Endocrin. **8**, 133 (1948). – 97. *Berkman, J. M., Weir, J. F., und Kepler, E. J.*: Gastroenterology **9**, 357 (1947). – 98. *Warter, J., Schwartz, J., und Weill, J. P.*: Schweiz. med. Wschr. **83**, 467 (1953). – 99. *Bongiovanni, A. M., und Eisenmenger, W. J.*: J. clin. Endocrin. **11**, 152 (1951); Proc. II. Clin. ACTH Conf. I, 390 (1951). – 100. *Lloyd, C. W., und Williams, R. H.*: Amer. J. Med. **4**, 315 (1948). – 101. *Marti, M.*: Helv. med. Acta **18**, 215 (1951). – 102. *Vogt, M.*: J. Physiol. (Brit.) **113**, 129 (1951). – 103. *Pickford, M., und Vogt, M.*: J. Physiol. (Brit.) **112**, 133 (1951). – 104. *Hechter, O.*: Fed. Proc. **8**, 70 (1949). – 105. *Long, C. N. H., und Fry, E. G.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **59**, 67 (1945). – 106. *Handler, P., und Bernheim, F.*: Fed. Proc. **9**, 399 (1950). – 107. *Mulinos, M. G., und Pomerantz, L.*: J. Nutrit. (Am.) **19**, 493 (1940). – 108. *Uehlinger, E.*: Helv. med. Acta **14** (1947). – 109. *Perkins, R. F., und Rynearson, E. H.*: J. clin. Endocrin. **12**,

574 (1952). – 110. Long, C. N. H.: Rec. Progr. Hormon. Res. VII, 75 (1952). – 111. Ciba Found. Colloquia on Endocrinology Vol. IV (1952). – 112. Colfer, H. F., de Groot, J., und Harris, O. W.: J. Physiol. (Brit.) **111**, 328 (1950). – 113. Hume, D. M., und Wittenstein, G. J.: Proc. 1. Clin. ACTH Conf. 1950. – 114. Porter, R. W.: Amer. J. Physiol. **172**, 515 (1953). – 115. Simms, E., Pfeifferberger, M., und Heinbecker, P.: Endocrinology (Am.) **49**, 45 (1951). – 116. Perloff, W. H., Levy, L. M., und Despopoulos, A.: J. clin. Endocrin. **12**, 36 (1952). – 117. Pincus, G., Hoagland, H., Freeman, H., und Elmadjan, F.: Rec. Progr. Hormon. Res. IV, 291 (1949). – 118. Hoagland, H.: Proc. Colston Res. Soc. Sympos., Bristol 1951. – 119. Friedländer, J. H.: Psychiatr. Quart. (Am.) Suppl. **25**, 76 (1951). – 120. Binswanger, H., und Meier, L.: Schweiz. med. Wschr. **83**, 25 (1953). – 121. Eppinger, H., und Hess, E.: Zbl. klin. Med. **47**, 345 (1906). – 122. Bertelli, G., Falta, W., und Schweeger, O.: Z. klin. Med. **71**, 55 (1910). – 123. Oldenbourg, P., und Seisoff, J.: Beitr. Klin. Tbc. **77**, 2 (1931). – 124. Babes, V., und Jonesco, V.: C. r. Soc. Biol. **65**, 67 (1908). – 125. McDermott, W. V., Fry, E. G., Brobeck, J. R., und Long, C. N. H.: Yale J. Biol. a. Med. (Am.) **23**, 52 (1950). – 126. Farrell, G. L., und McCann, S. M.: Endocrinology (Am.) **50**, 274 (1952). – 127. Gemzell, C. A., van Dyke, D. C., Tobias, C. A., und Evans, H. M.: Endocrinology (Am.) **49**, 325 (1951); **50**, 399 (1952). – 128. Dresner, E., Pugh, L. G. C., und Wild, J. B.: Lancet **1**, 1149 (1950). – 129. Jeffries, W., Bochner, A. K., und Dorfman, R. I.: J. clin. Endocrin. **12**, 924 (1952). – 130. Nelson, D. H., Sandberg, A. A., Palmer, J. G., und Glenn, E. M.: J. clin. Endocrin. **12**, 936 (1952). – 131. Ruppel, W., und Hitzelberger, A.: Schweiz. med. Wschr. **81**, 926 (1951). – 132. Heni, F., und Krauss, J.: Klin. Wschr. **31**, 6 (1953). – 133. Mayet, B.: C. r. Acad. Sci. **106**, 762 (1888). – 134. Zappert, J. J.: Zbl. klin. Med. **13**, 386 (1892). – 135. Zollnikofer, R.: Dtsch. Arch. klin. Med. **69**, 221 (1901). – 136. Riebes, W.: Münch. med. Wschr. **52**, 1487 (1905). – 137. Dunger, K.: Münch. med. Wschr. **57**, 1942 (1910). – 138. Rud, F.: Acta psychiatr. (Dän.) Suppl. 40 (1947). – 139. Zit. bei Friedman, T. B.: J. amer. med. Assoc. **103**, 1618 (1934). – 140. Speirs, R.: Blood **7**, 550 (1852). – 141. Randolph, T. G.: J. Allergy (Am.) **15**, 89 (1944); J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **34**, 1696 (1949). – 142. Manners, T.: Brit. med. J. **2**, 1429 (1951). – 143. Pilot, M. L.: Amer. J. clin. Path. **20**, 877 (1950). – 144. McFarlane, J. C. W., und Cecil, G. W.: Brit. med. J. **2**, 1187 (1951). – 146. Holzbauer, A.: Wien. klin. Wschr. **64**, 337 (1952). – 147. Larsson, E., und Swensson, A.: Scand. J. clin. lab. Invest. **4**, 2 (1952). – 148. Bertrand, A.: Rev. Canad. Biol. **11**, 14 (1952). – 149. Henneman, C. P. H., Wexler, H., und Westenhaver, M. M.: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **34**, 1017 (1949). – 150. Smart, G. A.: Lancet **1**, 1170 (1950). – 151. Uhrbrand, H.: Acta haematol. **9**, 121 (1953). – 152. Hornung, H.: Z. klin. Med. **104**, 207 (1926). – 153. Gross, R., und Siehcke, U.: Klin. Wschr. **30**, 456 (1952). – 154. Hitzelberger, Ruppel, W., und Weissbecker, L.: Klin. Wschr. **30**, 470 (1952). – 155. Caramanian, M. K.: C. r. Soc. Biol. **145**, 127 (1952). – 156. Lucey, H.: J. clin. Path. **3**, 146 (1950). – 157. Speirs, R. S.: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **39**, 963 (1952). – 158. Manners, T.: J. clin. Path. **5**, 111 (1952). – 159. Muehrcke, R. C., Eckert, E. L., und Kark, R. M.: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **40**, 161 (1952). – 160. Fisher, B., und Fisher, E. R.: Amer. J. med. Sci. **221**, 121 (1951). – 161. Roche, M., Thorn, G. W., und Hills, A. G.: New Engl J. Med. **242**, 307 (1950). – 162. de la Balze, F. A., Reifenstein, E. C. jr., und Albright, F.: J. clin. Endocrin. **6**, 312 (1946). – 163. Magrini, A., und Marinelli, L.: Fol. endocrinol. (Pisa) **3**, 655 (1950). – 164. Thorn, G. W., und Forsham, P. H.: Rec. Progr. Hormon. Res. IV, 268 (1949). – 165. Ellestad, M. H., und Reed, J.: Ann. int. Med. **36**, 393 (1952). – 166. Jennings, P. B.: Brit. med. J. **1**, 1055 (1952). – 167. Sevit, S.: Brit. med. J. **1**, 976 (1951). – 168. Faloan, W. W., Reynolds, R. W., und Beebe, R. T.: New Engl J. Med. **242** (1950). – 169. Hodes, H. L., Moloshock, R. E., und Markowitz, M.: Pediatrics **10**, 138 (1952). – 170. Hauss, W. H., Lammers, L., und Brückner,

H.: Klin. Wschr. **30**, 635 (1952). – 171. *Buchan, J. F.*: Brit. med. J. **1**, 1249 (1952). – 172. *Reveno, W. S., Rosenbaum, H., und Buell, J. H.*: J. amer. med. Assoc. **149**, 1308 (1952). – 173. *Sabin, F. H.*: Bull. Hopkins Hosp., Baltim. **37**, 14 und 231 (1925). – 174. *Shaw, A. F. B.*: Brit. med. J. **1**, 916 (1925); J. Path. a. Bacter. **30**, 1 (1927). – 175. *Smith, Ch., und McDowell, A. M.*: Arch. int. Med. (Am.) **43**, 68 (1929). – 176. *Domarus, von, A.*: Dtsch. Arch. klin. Med. **171**, 333 (1931). – 177. *Appel, W.*: Z. exper. Med. **104**, 15 (1939). – 178. *Djavid, I.*: Klin. Wschr. **1**, 930 (1935). – 179. *Halberg, F., Vischer, M. B., Flink, E. B., Berge, K., und Bock, F.*: Lancet **2**, 312 (1951). – 180. *Hills, A. G., Forsham, P. H., und Finch, C. A.*: Blood **3**, 755 (1948). – 181. *Kellgren, J. H., und Janus, O.*: Brit. med. J. **2**, 1183 (1951). – 182. *Donato, R. A., und Strumia, M. M.*: Blood **7**, 1020 (1952). – 183. *Swanson, N.*: J. clin. Invest. (Am.) **30**, 677 (1951). *Swanson, J. N., Bauer, W., und Ropes, M.*: Lancet **1**, 129 (1952). – 184. *Herbert, P. H., und de Vries, A.*: Endocrinology (Am.) **44**, 259 (1949). – 185. *Broch, O. J., und Hangen, H. N.*: Acta endocrinol. **5**, 143 (1950). – 186. *Lützenkirchen, A.*: Dtsch. med. Wschr. **1951**, 1600. – 187. *Pincus, G., Romanoff, L. P., und Carlo, J.*: J. clin. Endocrin. **8**, 221 (1948). – 188. *Grad, B.*: J. clin. Endocrin. **12**, 708 (1952). – 189. *Halberg, F., Flink, E. B., und Visscher, M. B.*: Amer. J. Physiol. **167**, 791 (1951). – 190. *Flink, E. B., und Halberg, F.*: J. clin. Endocrin. **12**, 922 (1952). – 191. *Bonner, C. D.*: J. amer. med. Assoc. **148**, 634 (1952). – 192. *Selye, H.*: I. Ann. Report on Stress. Acta Inc., Montreal 1951. – 193. *Kuhl, W. J., jr., Wilson, H., und Ralli, E. P.*: J. clin. Endocrin. **12**, 393 (1952). – 194. *Bilger, R.*: Problem des HVL-NNR-Systems, I. Freiburger Sympos. Springer Verlag, 1953. – 195. *Rubino, G. F.*: Minerva med. (It.) **2**, 268 (1951). – 196. *Dreyfuss, F., und Feldman, S.*: Acta med. scand. (Schwd.) **144**, 107 (1952). – 197. *Renold, A. E., Quigley, T. B., Kennard, H. E., und Thorn, G. W.*: New Engld J. Med. **244**, 754 (1951). – 198. *Müller, E. F.*, in: Hdb. allg. Haematol., Bd. 1, 435. Urban & Schwarzenberg, 1932. – 199. *Steinberg, B., und Martin, R. A.*: Fed. Proc. **11**, 428 (1952). – 200. *Bluntschli, H. J., Rothlin, E., und Undritz, E.*: Helv. physiol. Acta **2**, 377 (1944). – 201. *Harris, M. M., und Lang, B.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **80**, 664 (1952). – 202. *Gordon, A. S., Piliero, S. J., und Landau, D.*: Endocrinology (Am.) **49**, 497 (1951). – 203. *Donohue, W. L., Snelling, C. E., Jackson, S. H., Laski, B., und Darte, J. M.*: J. amer. med. Assoc. **143**, 154 (1950). – 204. *Bethell, F. H.*: Proc. II. Clin. ACTH Conf. II, 597 (1951) (Diskussion). – 205. *Essellier, A. F., und Wagner, K. F.*: Schweiz. med. Wschr. **82**, 266 (1952); Klin. Wschr. **30**, 705 (1952). – 206. *Lawrence, J. S.*, zit. in: Blood Cells and Plasma Proteins. Academ. Press Inc., 1953. – 207. *Yoffey, J. M.*: Biol. Rev. **25**, 314 (1950). – 208. *Solomon, D. H., und Humphreys, S. R.*: Blood **6**, 824 (1951). – 209. *Spain, D. M., und Thalhimer, W.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **76**, 320 (1951). – 210. *Fruhman, G. J., und Gordon, A. S.*: Fed. Proc. **11**, 51 (1952). – 211. *Heuss und Mitarb.*: Arch. exper. Path. (D.) **214**, 183 (1951). – 212. *Pfeiffer, E. F., Schütz, J., und Schöffling, K.*: Z. exper. Med. **119**, 347 (1952). – 212a. *Kark, R. M., und Muehrcke, R. C.*: Lancet **1**, 1189 (1952). – 213. *Kovacs, A.*: Experientia **6**, 349 (1950). – 214. *Stäubli, C.*: Zit. bei 122. – 215. *Dougherty, T. F.*: Pituitary-Adrenal Function; Public. Amer. Assoc. Adv. Sci. **79** (1950). – 216. *Romani, J. D.*: C. r. Soc. Biol. **146**, 1680 (1952) (und Seiten 33, 348, 654, 993). – 217. *Robertson, J. S.*: Nature (Brit.) **161**, 814 (1948). – 218. *Delaunay, A., Delaunay, M., und Lebrun, J.*: Ann. Inst. Pasteur, Par. **76**, 203 (1949). – 219. *Baldrige, G. D., Kligman, A. M., Lipnik, M. J., und Pillsbury, D. M.*: Arch. Path. (Am.) **51**, 593 (1951). – 219a. *Feldman, J. D.*: Endocrinology (Am.) **46**, 552 (1950); **51**, 258 (1952). – 220. *Schrek, R.*: Endocrinology (Am.) **45**, 317 (1949). – 221. *Hechter, O., und Johnson, S.*: Endocrinology (Am.) **45**, 351 (1949). – 222. *Herlant, M.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **73**, 399 (1950). – 223. *Gross, R.*, in: Probleme des HVL-NNR-Systems, I. Freiburger Sympos., Springer Verlag, 1953. – 224. Zit. in 208 und 164. – 225. *Muehrcke, R. C., Lewis, J. L., und Kark,*

R. M.: Science **115**, 377 (1952); *Muehrcke, R. C., Lewis, J. L., Peters, J. H., Best, W. R., und Kark, R. M.*: Proc. Inst. Med. Chicago **19**, 68 (1952). – 226. *Godlowski, Z. Z.*: J. Endocrinol. **8**, 102 (1952). – 227. *Kit, R., und Barron, J.*: Endocrinology (Am.) **52**, 1 (1953). – 228. *Padawer, J., und Gordon, A. S.*: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **80**, 581 (1952); Endocrinology (Am.) **51**, 52 (1952). – 229. *Essellier, A. F., und Wagner, K. F.*: Acta haematol. **8**, 63 (1952). – 230. *Laves, W., und Thoma, K.*: Virchows Arch. **318**, 74 (1950); Fol. haematol. **70**, 205 (1951). – 231. *Vercauteren, R.*: Enzymologia **14**, 340 (1950); Bull. Soc. Chim. biol. **33**, 522 (1951); Arch. internat. Pharmacodynam. **1952**, 10. – 232. *Laves, W., und Thoma, K.*: Klin. Wschr. **1**, 377 (1951). – 233. *Morris, C. J. O. R.*: Ciba Found. Coll. Endocrinol. IV, 372 (1952). – 234. *Hitzig, W. M., und Rosenthal, D. J.*: Amer. J. Med. **14**, 378 (1953). – 235. *Young-husband, O. Z., Horrax, G., Hurxthal, L. M., Hare, H. F., und Poppen, J. L.*: J. clin. Endocrinol. **12**, 611 (1952). – 236. *Labhardt, A., und Spengler, M.*: Jahresversammlg. schweiz. Ges. inn. Med., 9./10. Mai 1953. – 237. *Cape, R. D. T., Thomas, J. W., und Palmer, R. A.*: Canad. med. Assoc. J. **66**, 441 (1950). – 238. *Vaughn, J.*: Blood **7**, 1 (1953). – 239. *Staub, H., und Bucher, K.*: Schweiz. med. Wschr. **73**, 904 (1943). – 240. *Schneider, R.*: Klin. Wschr. **31**, 11 (1953). – 241. *Weiner, H. A., und Morkovin, D.*: Amer. J. Med. **13**, 58 (1952).

Curriculum vitae

Perlia Charles, geboren am 11. März 1925 in Luxemburg-Eich. Dasselbst besuchte ich die Primarschule und das humanistische Gymnasium. Maturitätsexamen im Jahre 1944. Ein Jahr cours supérieur in Luxemburg, worauf ich 1946 nach Basel zur Fortsetzung meiner Medizinstudien kam. Anatomisch-Physiologische Prüfung im Frühling 1948. Während zweier Semester (1949–1950) war ich an der Medizinischen Fakultät in Bordeaux. Darauf wieder in Basel, wo ich meine Studien im Frühjahr 1952 abschloß.

